

ENDOGENE UND
BLAULICHT-INDUZIERT E IONENSTRÖME
BEI DER ALGE VAUCHERIA SESSILIS

von

Rosalinde M. Kicherer
aus Bubenreuth

*Duss
Erlangen*

ENDOGENE UND BLAULICHT-INDUZIERTER IONENSTRÖME BEI DER ALGE VAUCHERIA SESSILIS

**Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades**

**vorgelegt von
Rosalinde M. Kicherer
aus Bubenreuth**

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen

Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung:

23. Mai 1985

Vorsitzender der Promotionskommission:

Professor Dr. K. Brodersen

Erstberichterstatter:

Professor Dr. M. H. Weisenseel

Zweitberichterstatter:

Professor Dr. W. Haupt

INHALT

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

ZUSAMMENFASSUNG

EINLEITUNG

MATERIAL UND METHODEN

ERGEBNISSE

1. Endogene Ionenströme und Wachstum der Alge Vaucheria

1. 1. Strom und Wachstumsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von CaCl_2 , KCl , NaCl , CaSO_4 und H^+ -Ionen
1. 2. Strom und Wachstumsgeschwindigkeit bei gehemmter Photosynthese und Atmung
1. 3. Strom und Wachstumsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Temperatur

2. Blaulicht-induzierte Ionenströme und Verzweigungen

2. 1. Strom und Verzweigungen in Abhängigkeit von H^+ -Ionen, CaCl_2 , NaCl und Mannit
2. 2. Strom und Verzweigungen bei Anwesenheit von CN^- -Ionen im Medium
2. 3. Strom und Verzweigungen als Funktion des Abstandes des Bestrahlungsortes von der Spitze

DISKUSSION

LITERATUR

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

APW	künstliches Teichwasser (Artificial Pond Water)
MES	N-Morpholinoäthansulfonsäure (Puffer, pK-Wert = 6,2)
n	Zahl der durchgeführten Versuche
r^2	Bestimmtheitsmaß (Regressionskoeffizient) (Sachs, 1974)
S. E.	Standardabweichung des Mittelwertes
TFP	Trifluoperazin
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Puffer, pK-Wert = 8,3)

ZUSAMMENFASSUNG

Endogene Ionenströme und Wachstum der Alge Vaucheria

Messungen mit einer extrazellulären Schwingelektrode zeigten, daß in die wachsenden Spitzen der Alge *Vaucheria sessilis* stets ein Ionenstrom einfließt. Versuche in Medien mit unterschiedlicher Ionenzusammensetzung ergaben, daß der Einwärtsstrom und die Wachstumsgeschwindigkeit in APW höher waren als in allen Medien, die nur Bestandteile des APW enthielten. Der Strom war dabei stark von der H^+ - und der Salzkonzentration der Medien abhängig. Er nahm mit wachsendem pH-Wert, ausgehend von pH 5, zunächst wenig und dann von pH 7 auf 8 stark ab. Steigende Salzkonzentrationen bewirkten eine Abnahme des Stromes. Aus den Meßergebnissen kann geschlossen werden, daß der Einwärtsstrom im wesentlichen aus H^+ -Ionen besteht.

Für das Wachstum erwies sich die Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen als notwendig. Die in APW verwendete Konzentration von 0,1 mM war bei einem pH-Wert von 7 optimal. Zusätzliche K^+ -Ionen erhöhten die Wachstumsgeschwindigkeit merklich, während zusätzliche Na^+ -Ionen keine Wirkung auf das Wachstum ergaben. Der Strom nahm in der Regel mit wachsender Ca^{2+} -Konzentration des Mediums ab.

Nach Verdunkelung der Algen gingen Strom und Wachstumsgeschwindigkeit auf etwa 40 % ihrer Ausgangswerte im Weißlicht zurück. Wurden die Algen hinterher wieder belichtet, stieg der Strom nur mehr auf 50 % des ursprünglichen Wertes an und die Wachstumsgeschwindigkeit erhöhte sich kaum. In der Dunkelphase bewirkte die Zugabe von CN^- -Ionen zum Medium, daß der Strom und die Wachstumsgeschwindigkeit praktisch Null wurden. Bei einer Temperaturniedrigung des Mediums von 18 °C auf 11 °C sank der Einwärtsstrom mit einem Q_{10} -Wert von etwa 2 und die Wachstumsgeschwindigkeit mit einem Q_{10} -Wert von etwa 4.

Blaulicht-induzierte Ionenströme und Verzweigungen

Durch lokale Blaulichtbestrahlung eines Schlauchabschnittes der Alge *Vaucheria sessilis* konnten Ionenströme und Verzweigungen induziert werden. Mit Beginn der Bestrahlung trat ein Auswärtsstrom auf, der nach 3 bis 17 min sein Maximum erreichte. Wenn dieser Auswärtsstrom nach 10 bis 130 min in einen starken Einwärtsstrom überging, bildete sich eine Verdickung des Algen-schlauches. Eine Verzweigung entstand daraus, wenn der starke Einwärtsstrom kontinuierlich floß.

Das Maximum des Auswärtsstromes nahm mit dem pH-Wert des Mediums zu. Bei pH 5 bildeten die Algen keine, bei pH 6 teilweise, bei pH 7 und 8 immer Verzweigungen. In Medien mit verschiedenen CaCl_2 - und NaCl -Konzentrationen waren die Maxima des Auswärtsstromes fast gleich. Die Meßergebnisse sprechen dafür, daß der Auswärtsstrom im wesentlichen aus H^+ -Ionen besteht. Auf den Auswärtsstrom in Medien mit verschiedenen CaCl_2 - und NaCl -Konzentrationen folgte zunächst immer ein starker Einwärtsstrom. Ob dieser von Dauer war und damit außer Verdickungen auch auswachsende Verzweigungen entstanden, hing von der Ca^{2+} -Konzentration des Mediums ab. Am günstigsten war eine CaCl_2 -Konzentration von 0,1 mM. Ohne Ca^{2+} -Ionen im Medium bildeten sich keine Verzweigungen. Die Zugabe von CN^- -Ionen zu APW erhöhte den Auswärtsstrom geringfügig und es entstanden bei allen Algen Blaulicht-induzierte Verzweigungen. Die Zugabe von 200 bis 300 mM Mannit zu APW bewirkte eine starke Verringerung des Auswärtsstromes und verhinderte das Auswachsen von Verzweigungen.

Blaulichtbestrahlung der Algenspitze bewirkte ein leichtes Ansteigen des schon vorhandenen Einwärtsstromes und eine leichte Zunahme der Wachstumsgeschwindigkeit. Das Spitzenwachstum wurde auch noch durch Bestrahlung eines Schlauchabschnittes bis etwa 160 μm hinter der Spitze angeregt. Falls eine Verzweigung

induziert wurde, was ab etwa 160 μm möglich war, stellte die Spitze das anfänglich geförderte Wachstum ein, wobei der Einwärtsstrom gegen Null ging. Verzweigungen waren regelmäßig induzierbar, wenn die Bestrahlung mindestens 300 μm hinter der Spitze erfolgte.

EINLEITUNG

Selbstinduzierte elektrische Ströme wurden bei allen bisher untersuchten, polar wachsenden Zellen und Geweben gefunden (Jaffe and Nuccitelli, 1977; Weisenseel, 1982; Nuccitelli, 1983). Einwärtsströme, die in die Wachstumszone fließen, wurden z. B. beobachtet bei den Rhizoiden von *Pelvetia* (Jaffe and Nuccitelli, 1974; Nuccitelli and Jaffe, 1975; Nuccitelli, 1978), bei Pollenschläuchen von *Lilium longiflorum* (Weisenseel et al., 1975; Weisenseel and Jaffe, 1976), bei Wurzelspitzen und Wurzelhaaren von *Hordeum vulgare* (Weisenseel et al., 1979), bei Wurzelspitzen von *Lepidium sativum* (Behrens et al., 1982) und bei wachsenden Spitzen von *Vaucheria sessilis* (Kicherer, 1980; Weisenseel and Kicherer, 1981). Zur Erweiterung der Kenntnisse solcher selbst-induzierter Ströme sollte bei der einzelligen Alge *Vaucheria sessilis* untersucht werden, wie diese Ströme und das Wachstum von der ionalen Zusammensetzung des Mediums abhängen und welche Rolle dabei Photosynthese, Atmung und Temperatur spielen.

Verschiedene *Vaucheria*-arten bilden bei lokaler Bestrahlung Verzweigungen. Bei *Vaucheria geminata* gelang Kataoka (1975 b) die Induktion von Verzweigungen im Blaulicht. Åberg (1978) konnte bei *Vaucheria dichotoma* Verzweigungen sowohl im Blaulicht als auch im Rotlicht hervorrufen. Bei *Vaucheria sessilis* konnten Verzweigungen durch lokale Blaulichtbestrahlung, nicht jedoch durch Rotlicht, induziert werden (Kicherer, 1980). Hierbei trat zu Beginn der Bestrahlung ein Auswärtsstrom auf, der nach wenigen Minuten sein Maximum erreichte. Wie dieser Auswärtsstrom, die weitere Entwicklung des Stromes und die Entstehung von

Verzweigungen von der ionalen Zusammensetzung des Mediums abhängen, sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Des weiteren sollte die Auswirkung von Blaulicht auf den Strom und das Wachstum der vorhandenen Schlauchspitze ermittelt werden. Schließlich sollte noch untersucht werden, inwieweit die Induzierbarkeit von Verzweigungen vom Abstand des Bestrahlungsortes von der wachsenden Spitze abhängt.

Vaucheria hat für elektrophysiologische Untersuchungen von Wachstum und Differenzierung eine Reihe von Vorteilen. Sie wächst wie Pollenschläuche, Wurzelhaare und Rhizoide mit Spitzenwachstum (Weber, 1958; Kataoka, 1975 a), reagiert auf Licht mit der Ausbildung einer neuen Wachstumszone, zeigt im Licht spezifische Chloroplastenbewegungen (Haupt und Schönfeld, 1962; Fischer-Arnold, 1963), ist sehr regenerationsfähig (Rieth, 1969) und stellt geringe Ansprüche an die ionale Zusammensetzung des Mediums. Gerade der letztgenannte Punkt ist für die Identifikation der am Strom beteiligten Ionen von besonderem Vorteil.

Die nachfolgend beschriebenen Ergebnisse über endogene und induzierte Ströme bei Wachstum und Differenzierung von *Vaucheria sessilis* wurden mit einer extrazellulären, schwingenden Elektrode durchgeführt. Diese Methode hat folgende drei Vorzüge für die Messung von Strömen, die Zellen selbst produzieren: Sie ist etwa 1000mal empfindlicher als vergleichbare Meßmethoden, so daß noch Ströme im Bereich von nA cm^{-2} erfaßt werden können; sie hat ein räumliches Auflösungsvermögen von einigen μm ; sie mißt extrazellulär, so daß das Versuchsobjekt durch die Messung selbst in der Regel nicht beeinträchtigt wird (vgl. Weisenseel und Kicherer, 1981).

MATERIAL UND METHODEN

1. Kulturbedingungen

Die Experimente wurden mit der Alge *Vaucheria sessilis* (D. C.) durchgeführt. Die Algenstammkulturen wuchsen in Petrischalen mit Kulturmedium, das mit 1 %igem Bactoagar verfestigt wurde. Diese Petrischalen wurden mit einem Parafilmstreifen abgedichtet und gestürzt im Kulturraum gelagert. Für die Versuche wurden von den Stammkulturen Stücke eines Algengeflechtes in Petrischalen mit Kulturmedium gegeben und darin einige Tage bis mehrere Wochen kultiviert. Aus diesen Petrischalen kamen kleinere Algenportionen in die Meßschälchen. Die Stammkulturen und die Schalen mit dem Material für die Experimente standen im Kulturraum bei einer Temperatur von 16 °C, in 1000 bis 1600 lux Weißlicht (Osram-L 40 W und Radium NL 40 W) und in einem Licht-Dunkel-Wechsel von 12 : 12 h.

2. Kultur- und Versuchsmedien

2. 1. Kulturmedium

Das Kulturmedium bestand aus 1 l Makrolösung plus 1 ml Mikrolösung plus 5 bis 10 Tropfen $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (18,5 mM) plus 0,2 g Tris (M. Blatt, persönliche Mitteilung).

Die Makrolösung bestand aus:

3,68 mM NaNO_3	0,28 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
0,38 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,54 mM K_2HPO_4
1,61 mM KH_2PO_4	0,05 mM NaCl

Die Mikrolösung bestand aus:

34,8 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	58,7 μM $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
8,1 μM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	161,8 μM H_3BO_3
101,1 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	84,1 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$

Der pH-Wert des Kulturmediums wurde mit 0,1 N HCl auf 7,5 eingestellt. Anschließend wurde das Medium autoklaviert und gekühlt aufbewahrt.

2. 2. Versuchsmedien

Das Medium APW bestand aus 0,1 mM CaCl_2 + 0,1 mM KCl + 1,0 mM NaCl. Die Zusammensetzung der anderen Versuchsmedien wird bei der Beschreibung der Versuchsergebnisse angegeben.

Als Puffer wurden für pH 5 und 6 jeweils 1,0 mM N-Morpholinoäthansulfonsäure mit dem pK-Wert 6,2 (Serva, Heidelberg) und für pH 7 und 8 jeweils 1,0 mM Tris(hydroxymethyl)aminomethan mit dem pK-Wert 8,3 (Merck, Darmstadt) verwendet.

Die Versuchsmedien wurden einige Stunden mit Luft begast und mit 0,1 N NaOH bzw. HCl bzw. H_2SO_4 auf den entsprechenden pH-Wert eingestellt.

3. Versuchsdurchführung

Bei allen Versuchen wurden Meßschälchen mit einem Boden aus Deckglas und darauf aufgeklebtem Teflonring verwendet. Der Innendurchmesser betrug 35 mm und die Tiefe 4 mm. Die Algen wurden mit einigen Tropfen 1 %igem H_2O -Bactoagar zwischen zwei Plexiglaspfosten, die auf den Boden des Meßschälchens geklebt waren, befestigt.

Etwa 4 Tage vor der Messung wurden die Algen in den Schälchen in die Kulturkammer gebracht. Ungefähr 24 h vor Versuchsbeginn wurde das Kultur- gegen das Versuchsmedium ausgetauscht. Ohne diese 24-stündige Adaptationsphase zeigten die Algen starke zeitliche Stromschwankungen. Die Objekte für die Untersuchungen in Blaulicht wurden nach dem Medientausch verdunkelt. Unmittelbar vor Versuchsbeginn wurden die Meßschälchen der Kulturkammer entnommen, mehrmals mit Versuchsmedium gespült und mit frischem Versuchsmedium von 18 bis 20 °C gefüllt.

Vor und nach jeder Messung wurden der pH-Wert und der spezifische Widerstand des Mediums bestimmt (Digital pH Meter Modell 701, Orion; Conductivity Bridge Modell RC 21682, Beckman).

Für die Messungen des endogenen bzw. induzierten Stromes wurden folgende Einrichtungen verwendet:

- eine schwingende Elektrode, die an einem Drehtisch befestigt war und von einem Manipulator geführt werden konnte;
- ein umgekehrtes Mikroskop mit Fotoeinrichtung (Modell Invertoskop D mit Mikrofotoansatz, Zeiss; Kamera Modell XD-7, Minolta);
- ein Lock-in Verstärker mit Vorverstärker (Modell 122 bzw. 129 A, Princeton Applied Research);
- ein Linienschreiber (Modell SRG, Sargent, bzw. Modell Kompensograph III, Siemens).

Abbildung 1 zeigt den Meßplatz, Abbildung 2 den Aufbau der schwingenden Elektrode (vgl. Dorn, 1981; Dorn and Weisenseel, 1982).

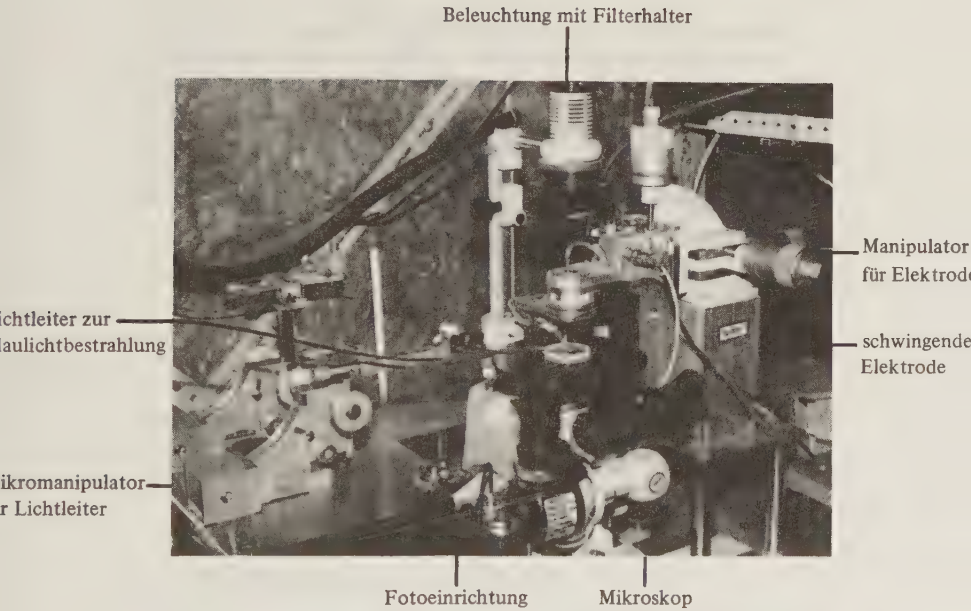


Abbildung 1:

Meßplatz mit schwingender Elektrode, Lichtleiter, umgekehrtem Mikroskop und Fotoeinrichtung.

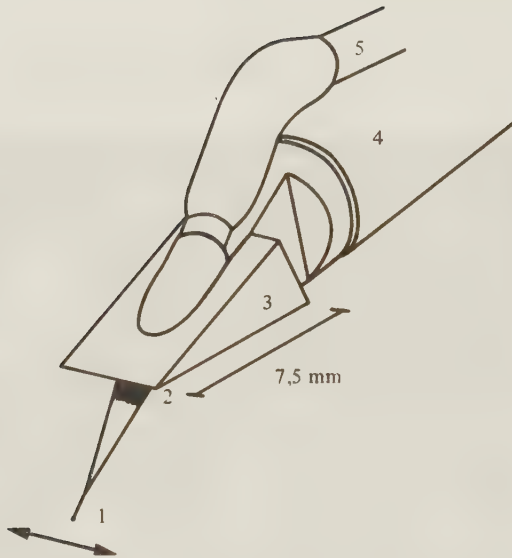


Abbildung 2:

Aufbau der schwingenden Elektrode:

Eine metallgefüllte Glasmikropipette trägt an der Spitze eine Kugel aus Platinschwarz von 20 bis 30 μm Durchmesser. Dies ist die Meßelektrode (1). Einige Millimeter hinter der Spitze befindet sich am Schaft der Mikropipette eine weitere Platinschwarz-Schicht, die koaxiale Referenzelektrode (2). Die Elektrode ist in den Plexiglashalter (3) eingeklebt, der mit dem piezoelektrischen Element im Inneren des Rohres (4) verbunden ist. Das Signalkabel (5) führt zum Vorverstärker des Lock-in Verstärkers. Der Doppelpfeil markiert die Schwingungsrichtung.

Der Meßkopf wurde durch Anlegen einer sinusförmigen Wechselspannung von einigen Volt an das Piezoelement in Schwingung versetzt. Die Frequenz betrug 475 bzw. 485 Hz, die Amplitude der Schwingung $32,5 \mu\text{m}$.

Schwingt die Elektrode in einem homogenen stationären elektrischen Feld, so leitet sie an den Lock-in Verstärker eine sinusförmige Wechselspannung weiter, deren Spitze-Spitze-Wert gleich der Potentialdifferenz zwischen den beiden Extrempositionen der Elektrode ist. Im Lock-in Verstärker wird die ankommende Meßspannung demoduliert. Ihr Effektivwert (V_{eff}) wurde von einem Schreiber aufgezeichnet. Daraus läßt sich die Stromdichte am Meßort nach folgender Gleichung berechnen:

$$I = \frac{V_{\text{eff}} \cdot 2,83}{d \cdot \rho} \quad (\text{A cm}^{-2}).$$

Dabei bedeuten:

V_{eff} = Effektivwert der Wechselspannung in V,

d = Amplitude der Elektrodenschwingung in cm,

ρ = spezifischer Widerstand des Mediums in $\Omega \text{ cm}$
(Mittelwert aus den Messungen vor und nach dem Versuch).

Der Referenzwert zur gemessenen Spannung wurde jeweils etwa $500 \mu\text{m}$ entfernt von den Algen aufgenommen.

Die Stromrichtung ist so definiert, daß ein Einwärtsstrom dem Fluß positiv geladener Ionen nach innen (oder dem Fluß negativ geladener Ionen nach außen) entspricht.

Die typische Versuchsanordnung für die Strommessungen an der Spitze von Algen ist in Abbildung 3 dargestellt.

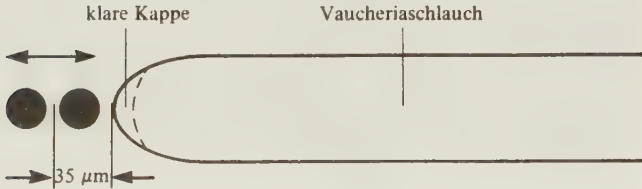


Abbildung 3:

Die Algen lagen horizontal im Meßschälchen. Das Symbol ●● stellt die Endpositionen der schwingenden Elektrode dar, wobei der Doppelpfeil die Schwingungsrichtung angibt. Die Meßposition entspricht dem Mittelpunkt der schwingenden Elektrode.

Die Messungen an der Spitze von Algen erfolgten in der Regel im Dauerweißlicht (6 V-Niedervoltlampe, $7,80 \text{ W m}^{-2}$ an der Zelle; im Strahlengang befand sich ein Wärmeschutzfilter KG 1/3 mm, Schott & Gen.). Während der üblichen Meßzeit von 2 h wurde die Elektrode 12mal aus der Referenz- in die Meßposition $35 \mu\text{m}$ vor der Spitze gebracht. Die 12 Meßwerte wurden gemittelt. Aus der Längenzunahme der Alge während der Meßzeit wurde die Wachstumsgeschwindigkeit berechnet. Pro Versuchsmedium wurden mindestens 6 verschiedene Algen gemessen.

Unterschiedliche Temperaturen des Mediums wurden dadurch erhalten, daß die Meßschälchen in mit Eis oder heißem Wasser gefüllte Petrischalen gestellt wurden. Die Temperatur des Meßmediums wurde mit einem Temperaturfühler und einem Telethermometer gemessen (Temperaturfühler Modell 427, Telethermometer Modell YSI 43, Yellow Springs Instr. Co.).

Zur lokalen Bestrahlung eines horizontal liegenden Vaucheriaschlauches wurde ein Lichtleiter mit Hilfe eines Mikromanipulators in das Meßschälchen eingebracht (Abb. 4, Abb. 1) (Lichtleiter von Schott & Gen.; Mikromanipulator Modell 50 888, Prior).

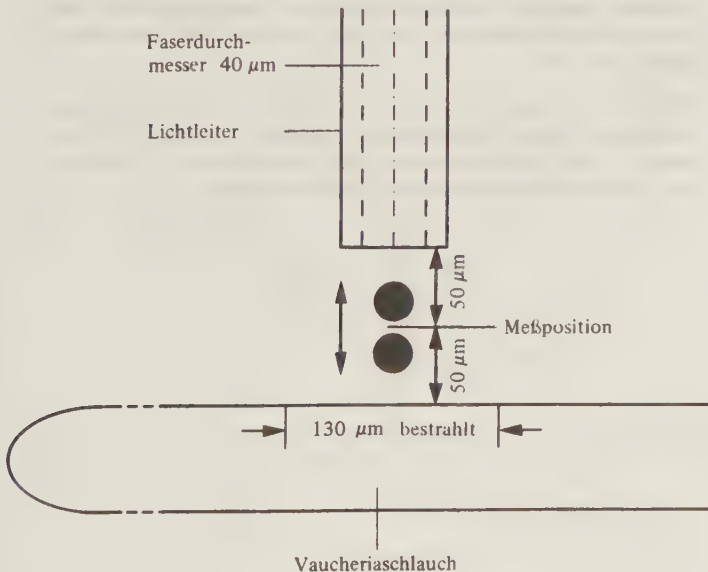


Abbildung 4:

Versuchsanordnung während der lokalen Bestrahlung eines Vaucheriaschlauches. Das Symbol ●● stellt die Endpositionen der schwingenden Elektrode dar, wobei der Doppelpfeil die Schwingungsrichtung angibt.

Das Licht zur Bestrahlung wurde von einem Projektor, der mit einem Wärmeschutzfilter ausgerüstet war, geliefert (Projektor Modell Noris Trumpf Halogen mit 250 W-Halogenlampe, Noris Projektion; Wärmeschutzfilter KG 1/6,5 mm, Schott & Gen.). Das aus dem Projektor austretende Licht wurde nach dem Passieren der Farbgläser über eine Linse auf die Eintrittsöffnung der Lichtfaser fokussiert. Im Strahlengang befand sich zusätzlich ein Fotoverschluß mit einem Kabel zur Fernbedienung. Für die Bestrahlung wurde ein Blaufilter mit $\lambda_{\max} = 400 \text{ nm}$ verwendet (BG 12/2 mm, Schott & Gen.).

Die Beleuchtungsstärke betrug in 100 μm Entfernung zur Austrittsstelle des Blaulichtes, etwa dort, wo die Algen lagen, rund 130 W m^{-2} . Gemessen wurde die Beleuchtungsstärke mit einem speziellen Lichtmeßkopf für Lichtleiterfasern nach dem Meßprinzip der Ulbrichtschen Kugel (Dorn, 1981).

Während eines Versuches, der 4 bis 6 h dauerte, wurde als Mikroskopbeleuchtung grünes Sicherheitslicht verwendet (AL 554/3 mm, Schott & Gen., in Verbindung mit einem Graufilter NG 3 %, Schott & Gen.). Zum Fotografieren wurde der Graufilter entfernt.

ERGEBNISSE

1. Endogene Ionenströme und Wachstum der Alge Vaucheria

Mit Hilfe der extrazellulär messenden Schwingelektrode wurde das Muster des endogenen Stromes an der Alge *Vaucheria sessilis* aufgenommen. Dabei wurde an den wachsenden Algenspitzen stets ein Einwärtsstrom gemessen (Abb. 5).

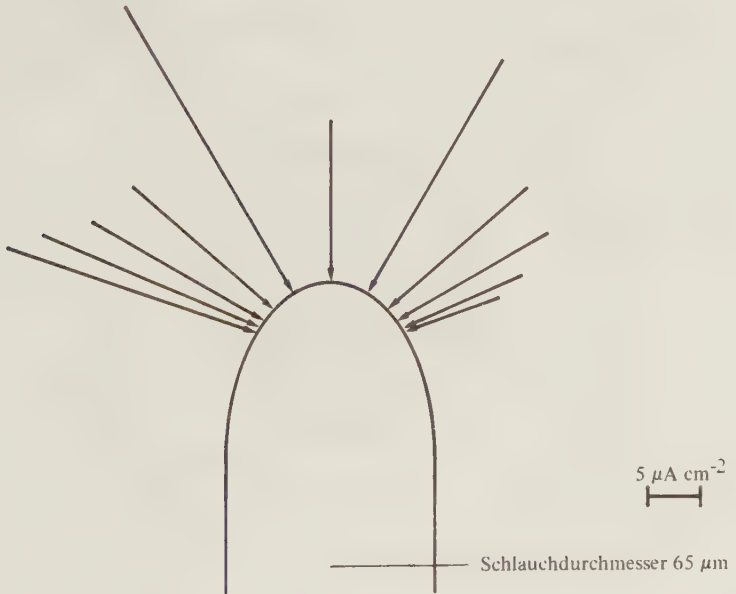


Abbildung 5:

Oberflächenstromdichte rund um die Spitze eines Algen-schlauches. Die Länge der Pfeile symbolisiert die Dichte des Einwärtsstromes an der Schlauchoberfläche bei den verschiedenen Meßpositionen (Methode zur Bestimmung der Stromdichte an der Oberfläche siehe Seite 19). Die Alge befand sich in APW (pH 7,5).

Im schlauchförmigen Abschnitt der Algen hinter der Spitze wurde im Vergleich zur Spitze ein weniger dichter Einwärtsstrom gemessen. An diskreten Stellen hinter der Schlauchspitze trat ein Auswärtsstrom auf. Dieser war stets kleiner als der Einwärtsstrom in den Nachbarregionen. Die Stromdichte rund um einen Algenfaden war bei gleichem Abstand zur Spitze etwa gleich groß (Abb. 6).

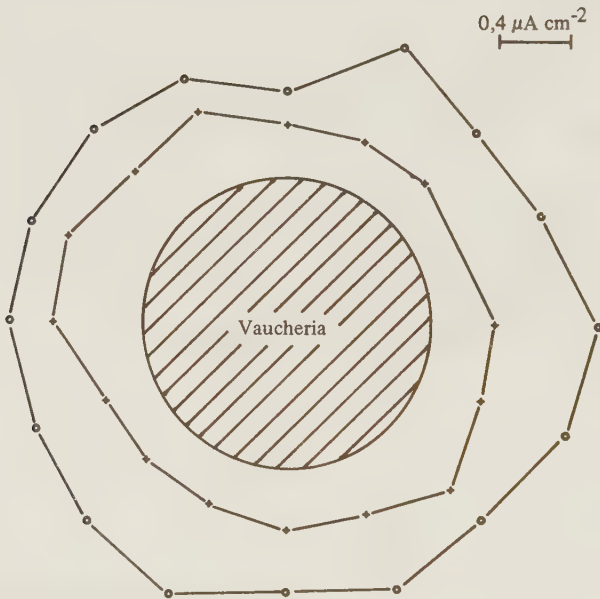


Abbildung 6:

Stromdichte in $35 \mu\text{m}$ Abstand zur Schlauchoberfläche eines senkrecht nach unten hängenden Schlauches. Es handelt sich um einen Einwärtsstrom. Die Alge befand sich in APW (pH 7,5). (Kreuze: $75 \mu\text{m}$ hinter der Spitze; Kreise: $100 \mu\text{m}$ hinter der Spitze)

Die Dichte des vor den Spitzen gemessenen Stromes fiel etwa mit dem Quadrat des Abstandes von der Oberfläche der Schlauchspitze ab (Abb. 7). Der daraus extrapolierte Ort der Stromsenke liegt im Durchschnitt etwa $22\text{ }\mu\text{m}$ unter der Oberfläche der Spitze. Mit diesen Informationen kann aus der gemessenen Stromdichte über der Oberfläche der Wert der Stromdichte an der Oberfläche berechnet werden. Dieser Wert wird bei den folgenden Versuchen für alle Messungen vor der Spitze angegeben.

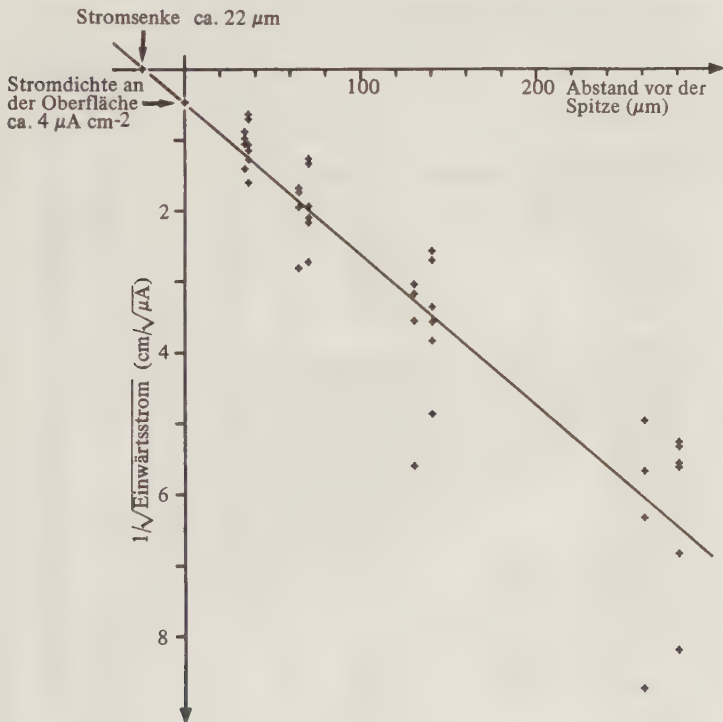


Abbildung 7:

Stromdichte als Funktion des Abstandes zur Schlauchspitze. Die Stromdichte ist in der Form $1/\sqrt{\text{Stromdichte}}$ aufgetragen, damit lineare Regression möglich ist (durchgezogene Linie). $r^2 = 0,85$ zeigt, daß lineare Regression sinnvoll ist (Sachs, 1974). Die Algen befanden sich im Kulturmedium (pH 7,5).

1. 1. Strom und Wachstumsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von CaCl_2 , KCl , NaCl , CaSO_4 und H^+ -Ionen

Die folgenden Versuche wurden in Medien durchgeführt, die vor allem die Bestandteile des APW in verschiedenen Kombinationen und Konzentrationen enthielten (Tab. 1). Dabei wurden zunächst Medien mit den in

Tabelle 1:

Stromdichte an der Oberfläche der Spitze und Wachstumsgeschwindigkeit in verschiedenen Medien

Zusammensetzung der Medien	pH	Dichte des Einwärtsstromes $\pm$ S. E. (n=6) ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	Wachstumsgeschwindigkeit $\pm$ S. E. (n=6) ($\mu\text{m h}^{-1}$)
<u>KCl-, NaCl-, CaCl_2-Medien</u>			
0,1 mM CaCl_2 + 0,1 mM KCl + 1,0 mM NaCl, 1,0 mM Tris(APW)	7	10,4 $\pm$ 1,8	91,1 $\pm$ 21,5
0,1 mM CaCl_2 + 0,1 mM KCl, 1,0 mM Tris	7	6,3 0,7	88,1 19,4
0,1 mM CaCl_2 + 1,0 mM NaCl, 1,0 mM Tris	7	3,0 0,4	63,3 13,0
0,1 mM KCl + 1,0 mM NaCl, 1,0 mM Tris	7	4,3 0,7	1,6
0,1 mM CaCl_2 , 1,0 mM Tris	7	7,6 2,4	65,4 16,1
0,1 mM KCl, 1,0 mM Tris	7	8,8 0,6	10,0 5,0
1,0 mM NaCl, 1,0 mM Tris	7	4,9 0,8	5,7 3,0
1,0 mM CaCl_2 , 1,0 mM Tris	7	3,7 0,6	59,6 17,6
1,0 mM KCl, 1,0 mM Tris	7	7,2 1,1	5,3 3,1
<u>Δ CaCl_2-Medien</u>			
0,1 mM CaCl_2 , 1,0 mM MES	6	7,7 $\pm$ 0,5	20,8 $\pm$ 13,0
1,0 mM CaCl_2 , 1,0 mM MES	6	4,9 0,8	29,5 7,8
10,0 mM CaCl_2 , 1,0 mM MES	6	3,0 0,5	43,3 10,0
0,1 mM CaCl_2 , 1,0 mM Tris	7	7,6 2,4	65,4 16,1
1,0 mM CaCl_2 , 1,0 mM Tris	7	3,7 0,6	59,6 17,6
10,0 mM CaCl_2 , 1,0 mM Tris	7	0,8 0,2	34,9 12,8
<u>Δ CaSO_4-Medien</u>			
0,1 mM CaSO_4 , 1,0 mM Tris	7	8,7 $\pm$ 1,5	61,7 $\pm$ 13,2
1,0 mM CaSO_4 , 1,0 mM Tris	7	3,8 0,7	68,9 19,5
10,0 mM CaSO_4 , 1,0 mM Tris	7	16,0 3,5	3,7
<u>Δ Ca^{2+}-Medien</u>			
0,01 mM CaCl_2 + 0,99 mM SrCl_2 , 1,0 mM Tris	7	6,0 $\pm$ 1,6	7,7 $\pm$ 4,8
0,1 mM CaCl_2 + 0,9 mM SrCl_2 , 1,0 mM Tris	7	5,0 0,9	26,2 10,9
0,5 mM CaCl_2 + 0,5 mM SrCl_2 , 1,0 mM Tris	7	3,6 0,9	53,2 13,6
<u>Δ Cl^--Medien</u>			
0,01 mM CaCl_2 + 0,99 mM CaSO_4 , 1,0 mM Tris	7	3,0 $\pm$ 0,4	43,7 $\pm$ 14,9
0,1 mM CaCl_2 + 0,9 mM CaSO_4 , 1,0 mM Tris	7	2,1 0,1	45,8 15,9
0,5 mM CaCl_2 + 0,5 mM CaSO_4 , 1,0 mM Tris	7	1,8 0,3	15,8
<u>Δ pH-Medien</u>			
0,1 mM CaCl_2 , 1,0 mM MES	5	9,5 $\pm$ 2,0	0,8
0,1 mM CaCl_2 , 1,0 mM MES	6	7,7 0,5	20,8 $\pm$ 13,0
0,1 mM CaCl_2 , 1,0 mM Tris	7	7,6 2,4	65,4 16,1
0,1 mM CaCl_2 , 1,0 mM Tris	8	1,3 1,5	26,5 16,4
<u>Δ Osmolarität</u>			
0,1 mM CaCl_2 (~0,3 mOsmol), 1,0 mM Tris	7	7,6 $\pm$ 2,4	65,4 $\pm$ 16,1
0,1 mM CaCl_2 + 25,0 mM Mannit(25,0 mOsmol) 1,0 mM Tris	7	2,0 0,2	25,0 5,7
10,0 mM CaCl_2 (25,0 mOsmol), 1,0 mM Tris	7	0,8 0,2	34,9 12,8

APW üblichen Salzkonzentrationen verwendet und einzelne Ionen weglassen (Abb. 8). Der Einwärtsstrom war bei den Algen in APW am

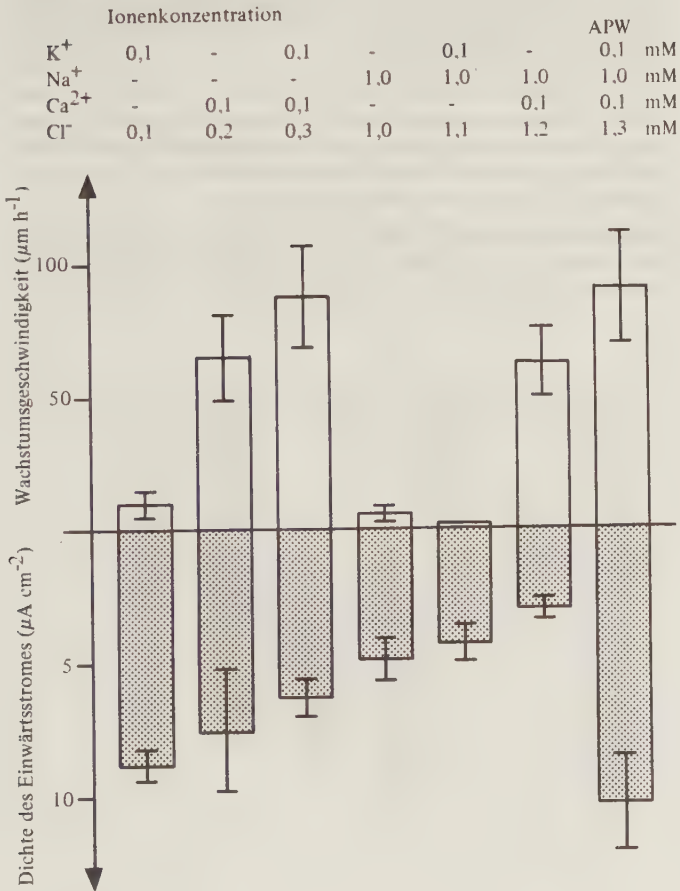


Abbildung 8:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) in Abhängigkeit von der KCl-, NaCl- und CaCl_2 -Konzentration ($n = 6$ pro Medium; alle Medien pH 7).

Für die Stromdichte wurde (ohne APW) die Regressionsgerade $I = a + b \log c$ erstellt, wobei I die Stromdichte in $\mu\text{A cm}^{-2}$, c die Cl^- -Konzentration in mM und $a = 4,2 \mu\text{A cm}^{-2}$, $b = -2,0 \mu\text{A cm}^{-2}$ ist ($r^2 = 0,94$).

größten. In den anderen 6 Medien nahm er mit wachsender Cl^- -Konzentration ab. Obwohl sich dabei für den formalen Zusammenhang zwischen der Cl^- -Konzentration und dem Einwärtsstrom das hohe Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,94$ ergab (Abb. 8), ist nicht auszuschließen, daß es sich um keine kausale Korrelation handelt, da z. B. mit der Cl^- -Konzentration auch die Salzkonzentration wächst.

Die Wachstumsgeschwindigkeit wurde hauptsächlich von der Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen bestimmt. Wurden Ca^{2+} -Ionen dem Medium nicht zugesetzt, so wuchsen die Algen fast nicht. Waren neben Ca^{2+} - noch K^+ -Ionen vorhanden, so erhöhte sich die Wachstumsgeschwindigkeit, während zusätzliche Na^+ -Ionen keinen Einfluß zeigten (Abb. 8).

Bei gleicher Kationenkonzentration von 1,0 mM hatten die Algen in KCl die höchste und in CaCl_2 die niedrigste Stromstärke (Abb. 9, Tab. 1). Wesentliches Wachstum hatten dagegen nur die Algen in CaCl_2 .

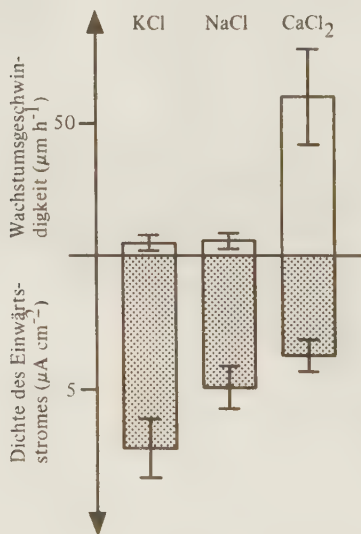


Abbildung 9:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) in KCl, NaCl und CaCl_2 bei der Konzentration von jeweils 1,0 mM ($n = 6$ pro Medium; alle Medien pH 7).

Die in den Abbildungen 8 und 9 dargestellten Ergebnisse zeigen die Bedeutung der Ca^{2+} -Ionen für das Wachstum. Ohne zugegebene Ca^{2+} -Ionen ist das Wachstum praktisch Null. Daher wurden in weiteren Versuche in Medien mit verschiedenen CaCl_2 - und CaSO_4 -Konzentrationen durchgeführt, um die Wirkung von Ca^{2+} -Ionen selbst und die Bedeutung der Gegenionen Cl^- und SO_4^{2-} näher zu untersuchen (Abb. 10, Tab. I). In CaCl_2 -

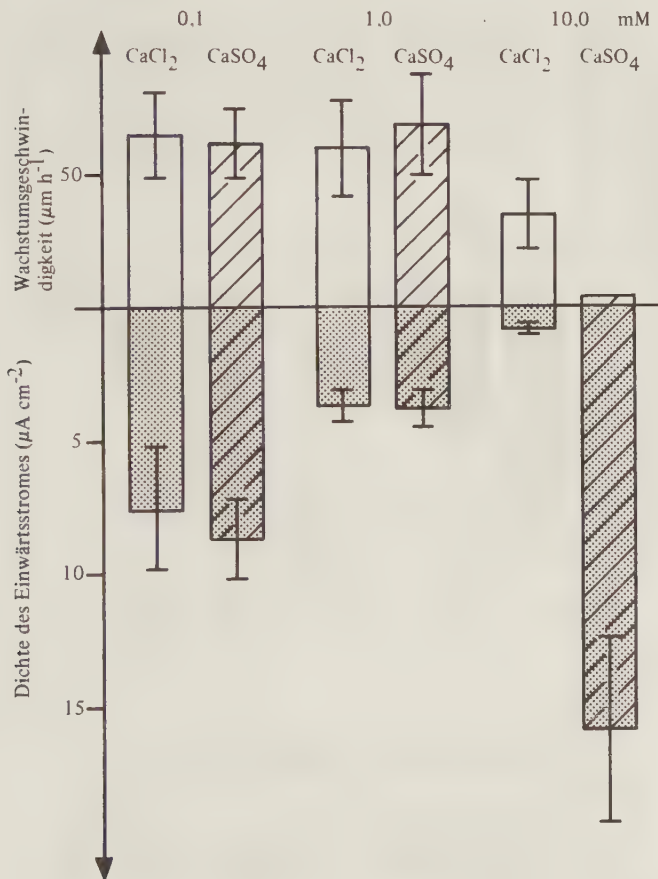


Abbildung 10:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) in Abhängigkeit von der CaCl_2 - und CaSO_4 -Konzentration ($n = 6$ pro Medium; alle Medien pH 7).

Lösungen von pH 7 nahm der Strom mit zunehmender Konzentration ab, während die Wachstumsgeschwindigkeit zunächst etwa konstant blieb und erst bei 10,0 mM deutlich geringer war. Die Erhöhung der CaCl_2 -Konzentration wirkte sich bei pH 6 anders aus als bei pH 7 (Abb. 11). Der Strom verringerte sich mit steigender CaCl_2 -Konzentration bei pH 7

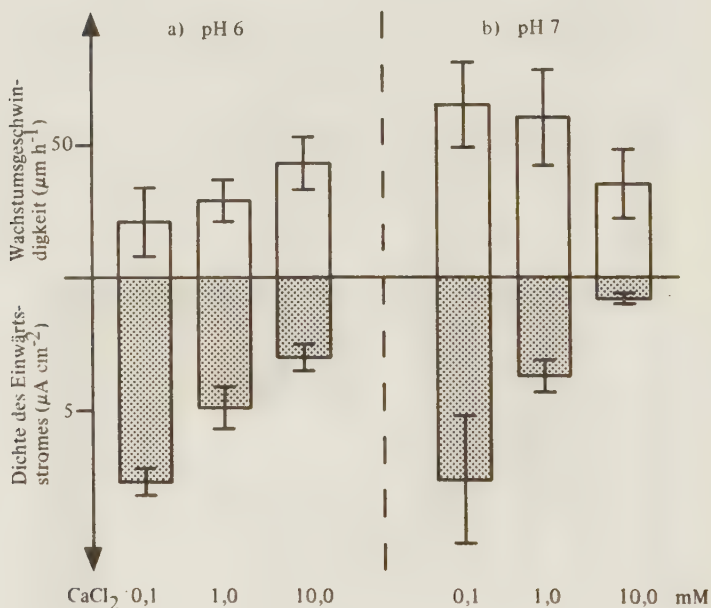


Abbildung 11:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) bei a) pH 6 und b) pH 7 in Abhängigkeit von der CaCl_2 -Konzentration ($n = 6$ pro Medium).

Für die Stromdichte wurde jeweils eine Regressionsgerade $I = a + b \log c$ erstellt, wobei I die Stromdichte in $\mu\text{A cm}^{-2}$ und c die Konzentration in mM sind. Die Koeffizienten und das Bestimmtheitsmaß betragen

a) $a = 5,2 \mu\text{A cm}^{-2}$, $b = -2,3 \mu\text{A cm}^{-2}$, $r^2 = 0,64$

b) $a = 4,0 \mu\text{A cm}^{-2}$, $b = -3,4 \mu\text{A cm}^{-2}$, $r^2 = 0,75$.

stärker als bei pH 6. Die Wachstumsgeschwindigkeit nahm mit steigender CaCl_2 -Konzentration bei pH 7 ab und bei pH 6 zu. In den CaSO_4 -Medien von pH 7 zeigten sich bei den Konzentrationen 0,1 und 1,0 mM im Vergleich zu den CaCl_2 -Medien keine deutlichen Unterschiede bezüglich Strom und Wachstumsgeschwindigkeit (Abb. 10). Bei 10,0 mM CaSO_4 jedoch stieg der Strom auf $16 \mu\text{A cm}^{-2}$ gegenüber $0,8 \mu\text{A cm}^{-2}$ bei CaCl_2 an, wobei das Wachstum praktisch eingestellt wurde.

Abbildung 12 a zeigt, daß der Strom mit steigender Ca^{2+} -Konzentration, bei konstanter Cl^- -Konzentration von 2,0 mM, abnahm, während die Wachstumsgeschwindigkeit zunahm. Mit steigender Cl^- -Konzentration, bei konstanter Ca^{2+} -Konzentration von 1,0 mM, nahm der Strom ebenfalls geringfügig ab, die Wachstumsgeschwindigkeit blieb zuerst konstant und fiel bei 1,0 mM Cl^- deutlich ab (Abb. 12 b).

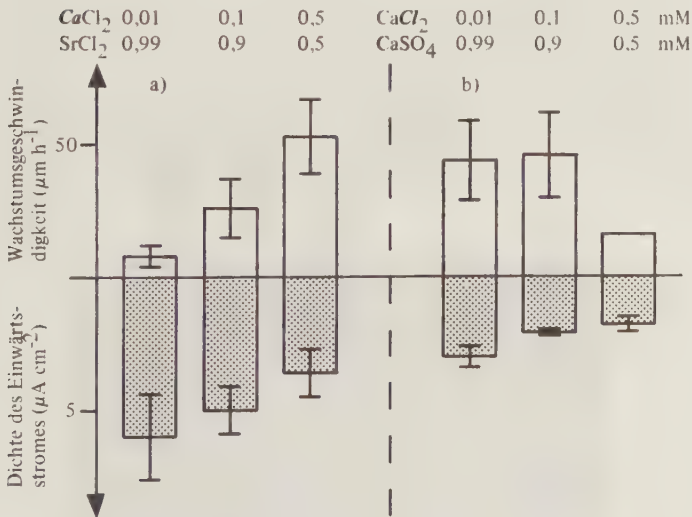


Abbildung 12:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.)

a) bei konstanter Cl^- -Konzentration ($n = 6$ pro Medium; alle Medien pH 7)

b) bei konstanter Ca^{2+} -Konzentration ($n = 6$ pro Medium; alle Medien pH 7).

Bei den bisher dargestellten Ergebnissen betrug der pH-Wert meistens 7. In dem einfachen Medium 0,1 mM CaCl_2 , das die für das Wachstum notwendigen Ca^{2+} -Ionen in ausreichender Konzentration enthielt, wurden Versuche bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Der höchste Strom wurde bei pH 5 gemessen, bei pH 6 und 7 war er etwas geringer und annähernd gleich, bei pH 8 deutlich niedriger (Abb. 13). Die höchste Wachstumsgeschwindigkeit hatten die Algen in pH 7, während diejenigen in pH 5 praktisch kein Wachstum zeigten (Abb. 13).

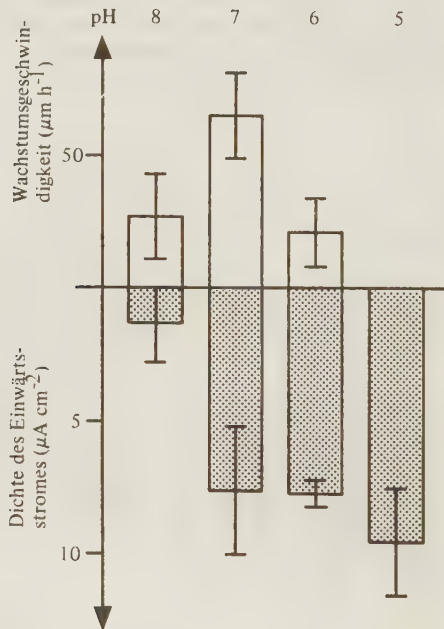


Abbildung 13:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) in Abhängigkeit vom pH ($n = 6$ pro Medium).

Die Medien enthielten 0,1 mM CaCl_2 + 1,0 mM MES (pH 5 und 6) und 0,1 mM CaCl_2 + 1,0 mM Tris (pH 7 und 8).

Bei allen Versuchen zur Strom- und Wachstumsmessung wurden auch die auffälligen morphologischen Eigenschaften der Algen registriert. Dabei zeigte sich, daß Wachstum nur stattfand, wenn die Algenspitzen eine klare Kappe aufwiesen. Diese war bei stark wachsenden Algen, wie z. B. in APW, etwa 15 μm breit. In APW war der Einwärtsstrom umso größer, je breiter die klare Kappe war. Die Chloroplasten waren bei den stark wachsenden Algen gleichmäßig im Schlauch verteilt. Bei allen Algen, die relativ großen Einwärtsstrom und sehr geringes Wachstum aufwiesen, also in den Medien, denen keine Ca^{2+} -Ionen zugesetzt wurden (Abb. 8), in 10,0 mM CaSO_4 (Abb. 10) und in 0,1 mM CaCl_2 bei pH 5 (Abb. 13), waren die Chloroplasten ungleich über den Schlauch verteilt. Auffallend war auch, daß die Algen in Medien mit zugegebenen Ca^{2+} -Ionen stärker grün gefärbt waren als in Medien ohne zugefügte Ca^{2+} -Ionen.

Die Ca^{2+} -Verteilung in den Algen wurde mit Hilfe der Chlortetracyclin-Fluoreszenz untersucht. Bei dieser Methode werden Ca^{2+} -Ansammlungen in lipophilen Phasen durch gelbes Leuchten sichtbar. Es wurden jeweils mehrere Algen in die mit 0,1 mM Chlortetracyclin markierten Medien APW, 0,1 mM CaCl_2 , 0,1 mM CaSO_4 , 1,0 mM NaCl und 1,0 mM KCl (alle pH 7) gebracht. Dabei zeigten die Algen in den Ca^{2+} -haltigen Medien ausgeprägte gelbe Kappen (Abb. 14), in NaCl lediglich einen schmalen gelben Saum an der Spitze und in KCl kein gelbes Leuchten.

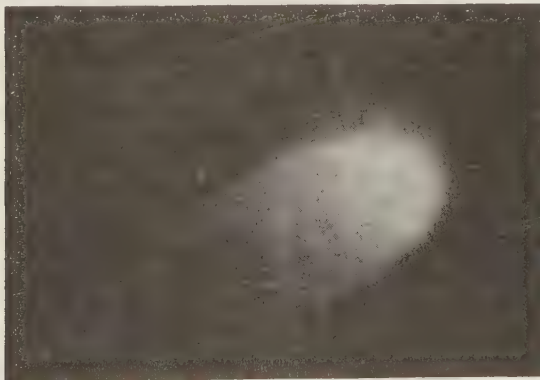


Abbildung 14:

Typische gelbe Kappe bei Chlortetracyclin-Fluoreszenz. Das Medium enthielt 0,1 mM CaCl_2 + 1,0 mM Tris (pH 7).

In einigen Versuchen wurde auch die Wirkung des Calmodulin-Hemmstoffes Trifluoperazin (TFP) untersucht. Dazu wurden 3 Algen, die in APW, und 2 Algen, die in 1,0 mM CaSO_4 adaptiert waren, jeweils in ein Medium gebracht, das zusätzlich 25 μM TFP enthielt. Während zuvor in APW ein mittlerer Einwärtsstrom von $7,2 \mu\text{A cm}^{-2}$ und in CaSO_4 ein solcher von $4,5 \mu\text{A cm}^{-2}$ gemessen wurde, schwankte der Strom nach dem Medientausch sehr stark. Zuerst wurden Einwärtsströme zwischen 0 und $30 \mu\text{A cm}^{-2}$, danach Auswärtsströme zwischen 0 und $20 \mu\text{A cm}^{-2}$ gemessen. Nach etwa 10 min in APW und 20 min im CaSO_4 -Medium floß ein Auswärts- oder Einwärtsstrom, der kleiner als $1 \mu\text{A cm}^{-2}$ war. Alle Algen stellten das Wachstum ein. Die Chloroplasten waren sehr ungleich über den Algenschlauch verteilt. Dies konnte auch durch einen Rücktausch in TFP-freie Medien nicht mehr rückgängig gemacht werden.

1. 2. Strom und Wachstumsgeschwindigkeit bei gehemmter Photosynthese und Atmung

Der Einfluß der Photosynthese auf die Stromstärke und die Wachstumsgeschwindigkeit wurde stets an ein und derselben Alge untersucht. Die Messungen wurden jeweils 60 min im Weißlicht, im 'Dunkeln', d. h. in sehr schwachem Grünlicht, und anschließend wieder im Weißlicht durchgeführt.

Der Einwärtsstrom nahm direkt nach dem Ausschalten des Weißlichtes ab (Abb. 15).

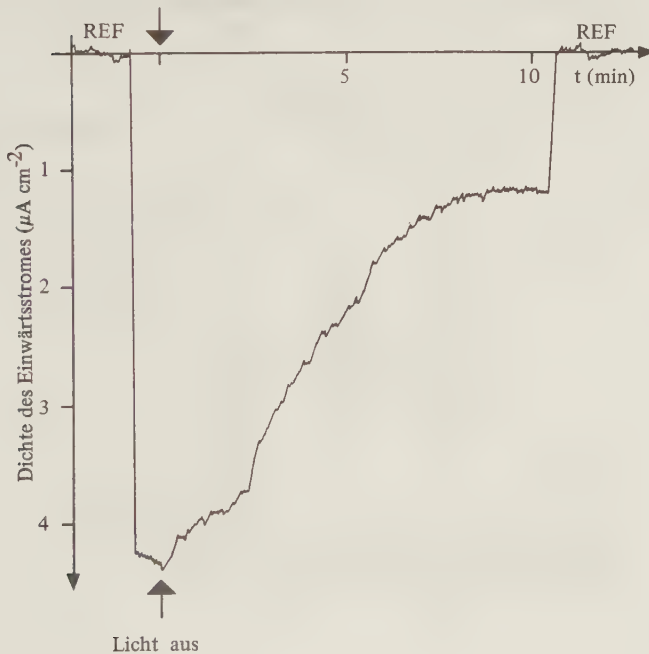


Abbildung 15:

Typische Messung der Stromdichte beim Wechsel von Weißlicht auf 'Dunkelheit'. Die Alge befand sich in APW (pH 7). (REF = Referenzposition)

Nach dem Anschalten des Weißlichtes nahm der Strom erst nach 1 bis 2 min wieder zu (Abb. 16).



Abbildung 16:

Typische Messung der Stromdichte beim Wechsel von 'Dunkelheit' auf Weißlicht. Die Alge befand sich in APW (pH 7).
(REF = Referenzposition)

Die über 3 Meßabschnitte jeweils gemittelten Stromstärken und Wachstumsgeschwindigkeiten sind in Abbildung 17 enthalten. Der Strom und die Wachstumsgeschwindigkeit betrugen im 'Dunkeln' nur etwa 40 % des Ausgangswertes im Weißlicht. Der Strom nahm bei allen 6 Algen in der 2. Lichtphase wieder zu, erreichte aber nicht mehr den Ausgangswert der 1. Lichtphase. Die Wachstumsgeschwindigkeit blieb im Mittel wie in der vorangegangenen Dunkelphase.

In der 1. Lichtphase hatten alle Algen klare Kappen; diese verschwanden im 'Dunkeln'. Nur 2 Algen, die in der 2. Lichtphase etwas stärkeres Wachstum als im 'Dunkeln' hatten, bildeten auch wieder klare Kappen.

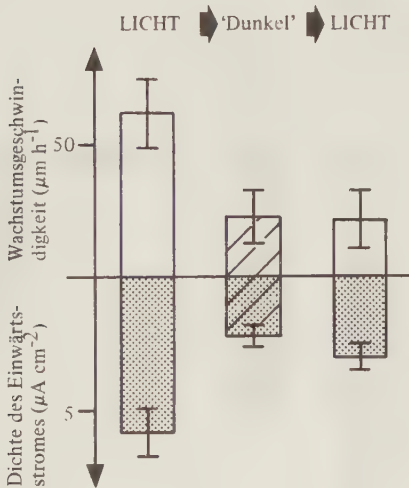


Abbildung 17:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) jeweils 60 min in Weißlicht, im 'Dunkeln' und in dem darauf folgenden Weißlicht. Die 6 Algen befanden sich in APW (pH 7).

Der Einfluß der Atmung auf Wachstum und Strom wurde durch Zusatz von 1,0 mM KCN zu APW untersucht. Cyanid hemmt häufig die Atmungskette (Mohr und Schopfer, 1978), nicht aber in dieser Konzentration die Photosynthese bei in-vivo Versuchen (Knobloch, pers. Mitteilung). Bei den Messungen wurde 30 min nach der 'Verdunkelung' der Algen das APW gegen APW + 1,0 mM KCN ausgetauscht. Nach diesem Austausch floß fast kein Strom mehr und alle Algen stellten das Wachstum ein (Abb. 18).

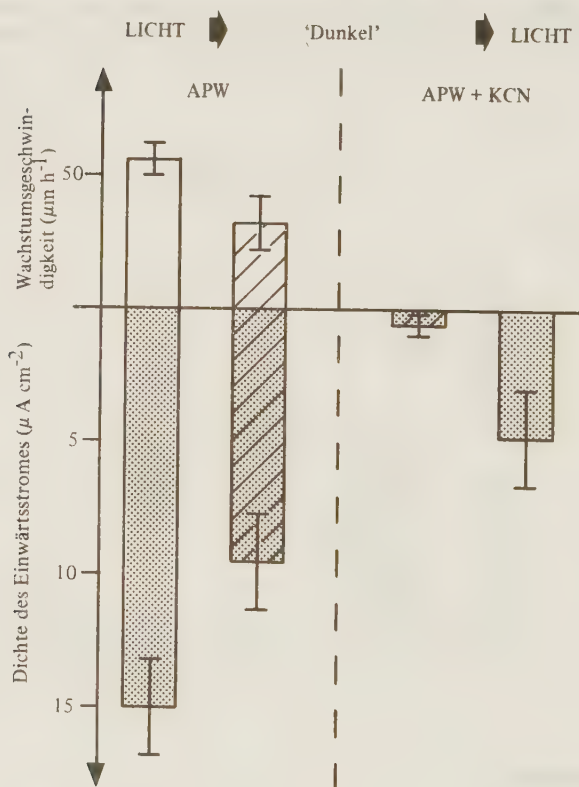


Abbildung 18:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) im Weißlicht und im 'Dunkeln' in APW und danach im 'Dunkeln' und im Weißlicht in APW + 1,0 mM KCN ($n = 6$, pH 7).

Im nachfolgenden Weißlicht stieg der Strom wieder an, erreichte aber nur etwa 30 % des Wertes zu Beginn der Messung. Lediglich 2 Algen wuchsen wieder, allerdings mit 10 μm bzw. 30 μm nach ungefähr 6 h äußerst geringfügig.

1.3. Strom und Wachstumsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Temperatur

Neben dem Licht kann als ein weiterer äußerer Faktor die Temperatur das Wachstum beeinflussen. Bei den durchgeführten Versuchen nahmen die Wachstumsgeschwindigkeit und der Strom mit der Temperatur zu bzw. ab (Abb. 19). Die Medientemperatur wurde im Abstand von 30 min zwischen den beiden Werten 11 und 18 °C geändert. Bei 11 °C betrug der Strom etwa 50 % und die Wachstumsgeschwindigkeit etwa 35 % des Wertes bei 18 °C. Der mittlere Temperaturquotient Q_{10} betrug für den Strom 2,1 und für die Wachstumsgeschwindigkeit 4,3. Bei höheren Temperaturen ab etwa 25 °C platzten die Algenspitzen teilweise auf.

Bei der Temperatur von 18 °C hatten die Algen etwa 12 µm breite klare Kappen, die nach der Abkühlung auf 11 °C kurzzeitig verschwanden und sich dann wieder auf etwa 8 µm ausdehnten.

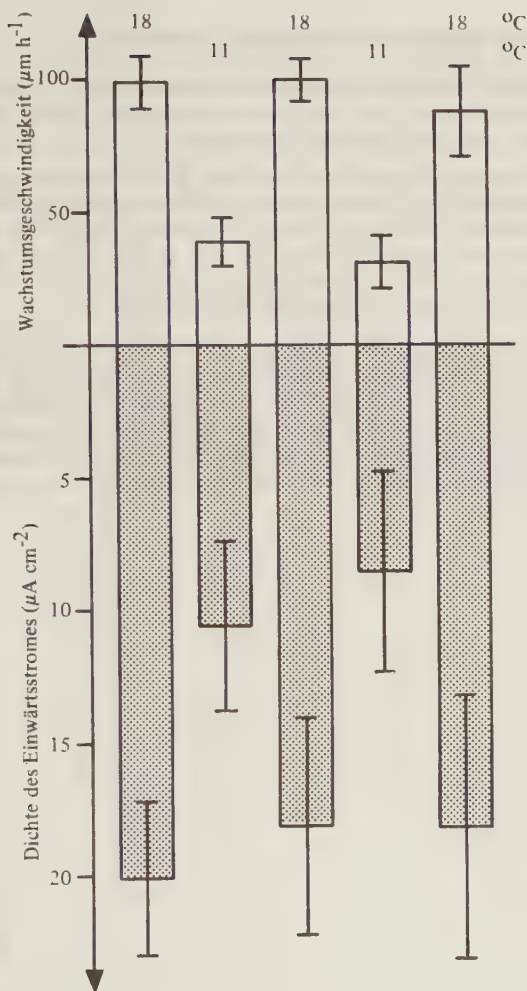


Abbildung 19:

Stromdichte und Wachstumsgeschwindigkeit ($\pm$ S. E.) bei 18 und 11 °C. Die 3 Algen befanden sich in APW (pH 7).

2. Blaulicht-induzierte Ionenströme und Verzweigungen

Eine lokale Bestrahlung mit Blaulicht in einem gewissen Abstand hinter der Spitze induzierte bei *Vaucheria sessilis* Ionenströme, deren typischer zeitlicher Verlauf in Abbildung 20 gezeigt wird.

Nach Bestrahlungsbeginn wurde zunächst ein Auswärtsstrom gemessen, der nach etwa 3 bis 17 min am größten war. Nach frühestens etwa 10 und spätestens etwa 130 min ging dieser in einen Einwärtsstrom über, falls in dem bestrahlten Gebiet nach insgesamt etwa 40 bzw. 170 min eine Verzweigung auswuchs. Der Bestrahlungsort am Schlauch war in diesen Fällen immer mindestens 300 μm von der Spitze entfernt.

Die folgenden Ergebnisse zeigen den Einfluß der extrazellulären H^+ -, CaCl_2 - und NaCl -Konzentration, die Wirkung von Mannit und Cyanid im Medium sowie den Einfluß des Abstandes des Bestrahlungsortes zur Spitze auf die Blaulicht-induzierten Ionenströme und die Induzierbarkeit von Verzweigungen. Es sei noch bemerkt, daß die Ströme hier immer für die Meßposition angegeben, also nicht für die Algenoberfläche umgerechnet sind.



Abbildung 20:

Typisches Beispiel für den zeitlichen Verlauf des Strommusters bei lokaler Bestrahlung eines Vaucheriaschlauches mit Blaulicht (Abstand der Elektrode zur Schlauchoberfläche: 50 μ m). An dieser Stelle entstand nach etwa 90 min eine Verzweigungsanlage. Die Alge befand sich in APW (pH 7,5). (REF = Referenzposition)

2.1. Strom und Verzweigungen in Abhängigkeit von H^+ -Ionen, $CaCl_2$, NaCl und Mannit

Der Einfluß des pH-Wertes auf den Blaulicht-induzierten Strom wurde in APW untersucht. Das Maximum des Auswärtsstromes zu Beginn der Bestrahlung und die Zahl der Verzweigungen nahmen mit steigendem pH-Wert zu (Abb. 21). Dabei wuchs bei pH 8 und 7 bei allen, bei pH 5 bei keiner der 6 Algen eine Verzweigung.

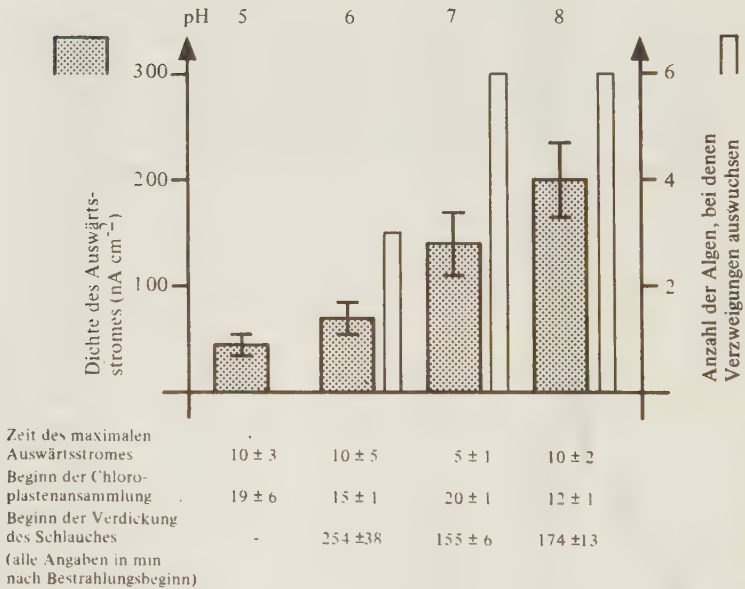


Abbildung 21:

Stromdichte ($\pm$ S. E.) in Abhängigkeit vom pH-Wert des Mediums (APW) ($n = 6$ pro Medium; Stromdichte im Abstand von $50 \mu m$ zur Schlauchoberfläche).

Die schlanken Säulen geben die Anzahl der Algen an, bei denen Verzweigungen auswuchsen ($n = 6$).

Die Algen befanden sich in APW + $1,0$ mM MES (pH 5 und 6) oder in APW + $1,0$ mM Tris (pH 7 und 8).

In Abbildung 22 sind die für die verschiedenen pH-Werte typischen zeitlichen Stromverläufe skizziert. Nur Algen, bei denen auf den Auswärtsstrom ein andauernder hoher Einwärtsstrom folgte, zeigten induzierte

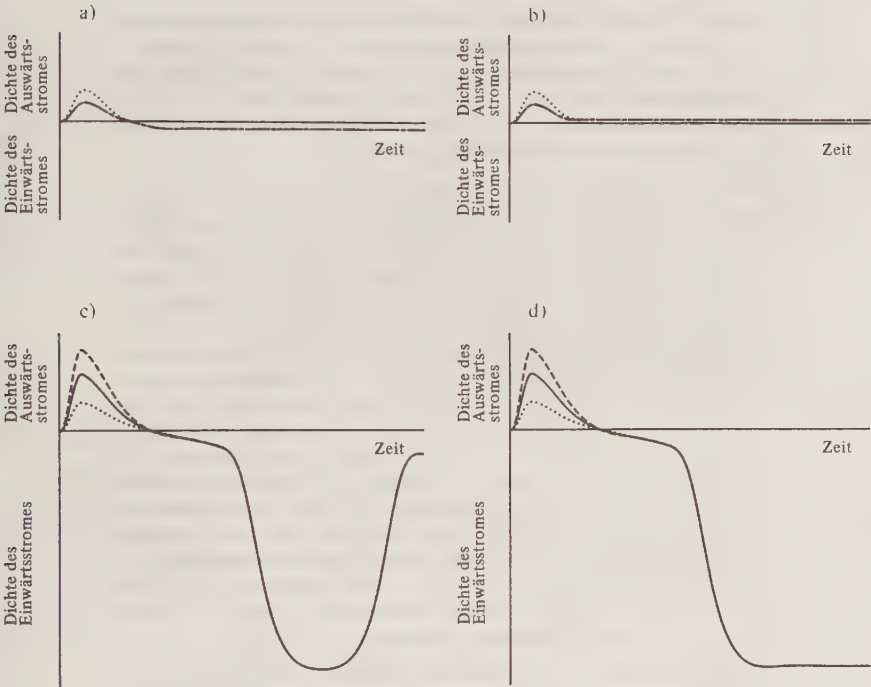


Abbildung 22:

Schematische Darstellung der typischen zeitlichen Strommuster in APW bei verschiedenen pH-Werten.

pH 5: ———; pH 6:; pH 7: ———; pH 8: - - - -

a) und b): Es entstanden keine Verzweigungen.

c) : Es entstanden keine Verzweigungen an der Meßposition, jedoch teilweise an benachbarten Stellen.

d) : Es entstanden Verzweigungen an der Meßposition.

Verzweigungen an der Meßposition (Abb. 22 d). Bei nur vorübergehend hohem Einwärtsstrom entstanden teilweise Verzweigungen an Stellen, die der Meßposition benachbart waren (Abb. 22 c). Vor allen wachsenden Verzweigungsspitzen wurde ein kontinuierlich fließender, hoher Einwärtsstrom gemessen. Hoher Einwärtsstrom und das Auswachsen von Verzweigungen traten nur bei ständiger Bestrahlung mit Blaulicht auf.

Bei den Versuchen, bei denen Verzweigungen auswuchsen, nahm zunächst im bestrahlten Gebiet der Schlauchdurchmesser zu. Dann entstanden entweder 1 oder 2 Verzweigungen, entweder oberhalb, in oder unterhalb der Äquatorialebene, entweder auf der dem Lichtleiter zugewandten Seite oder auf der Schattenseite. Alle Verzweigungen wuchsen zur Lichtquelle, so daß teilweise Krümmungswachstum stattfand.

Bei den natürlich wachsenden *Vaucheriaschläuchen* hatten die Ca^{2+} -Ionen einen deutlichen Einfluß auf das Wachstum. Daher wurde auch bei den Blaulichtbestrahlungen der Einfluß der verschiedenen Ca^{2+} -Konzentrationen auf die Induzierbarkeit von Verzweigungen untersucht. Dabei wurde der Cl^- -Gehalt durch die Beimischung von NaCl konstant gehalten, da dieses Salz auf das Spitzenwachstum kaum Einfluß hat (vgl. Abb. 8). Abbildung 23 zeigt die Anzahl der jeweils induzierten Verzweigungen und die Maximalwerte des Auswärtsstromes. Bei den verwendeten Medien unterschieden sich die Maximalwerte des Auswärtsstromes nicht stark vom Wert in APW pH 7 (Abb. 21 und 23). Die Zahl der induzierten Verzweigungen war aber deutlich von der Ca^{2+} -Konzentration abhängig. In dem Medium mit 0,1 mM CaCl_2 + 1,8 mM NaCl bildeten alle 6 Algen Verzweigungen (Abb. 23). Ohne dem Medium zugefügte Ca^{2+} -Ionen wurden keine Verzweigungen angelegt, es entstand nur eine Verdickung des Schlauches während eines kurzzeitig auftretenden hohen Einwärtsstromes. Auffallend war, daß dieser Einwärtsstrom sehr hohe Schwankungen aufwies (Abb. 24). Diese traten auch in dem Medium mit 0,01 mM CaCl_2 bei den Algen auf, die keine Verzweigungen bildeten.

Der Einwärtsstrom an den Spitzen der induzierten Verzweigungen war wie der vor den natürlich entstandenen Schlauchspitzen in pH 8 geringer als in pH 6 und 7 und nahm mit steigender Ca^{2+} -Konzentration ab (Ergebnisse graphisch nicht dargestellt).

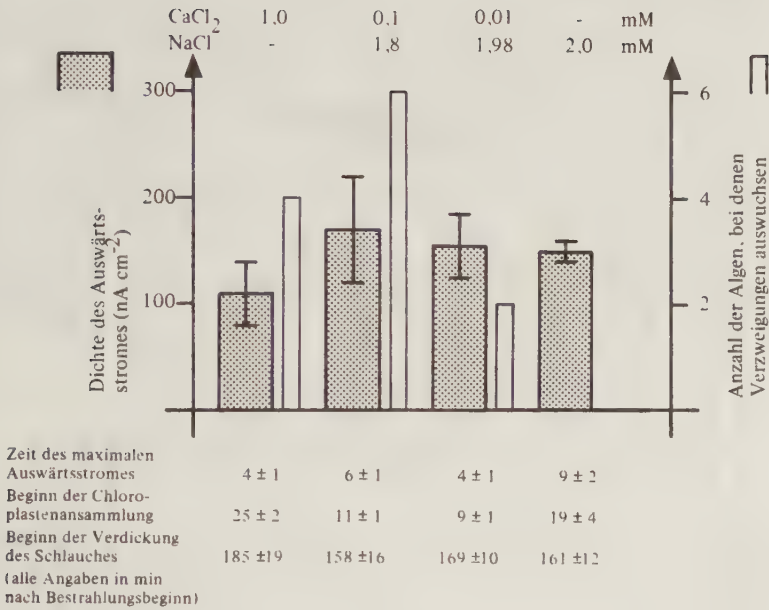


Abbildung 23:

Stromdichte ($\pm$ S. E.) in Abhängigkeit von der CaCl₂- und NaCl-Konzentration (pH 7; Stromdichte im Abstand von 50 μ m zur Schlauchoberfläche).

Die Mittelwerte des Stromes wurden dabei aus n = 4 - 5 Werten gebildet, da in einigen Experimenten die Elektrode zu Versuchsbeginn auf der Schattenseite stand.

Die schlanken Säulen geben die Anzahl der Algen an, bei denen Verzweigungen auswachsen (n = 6).

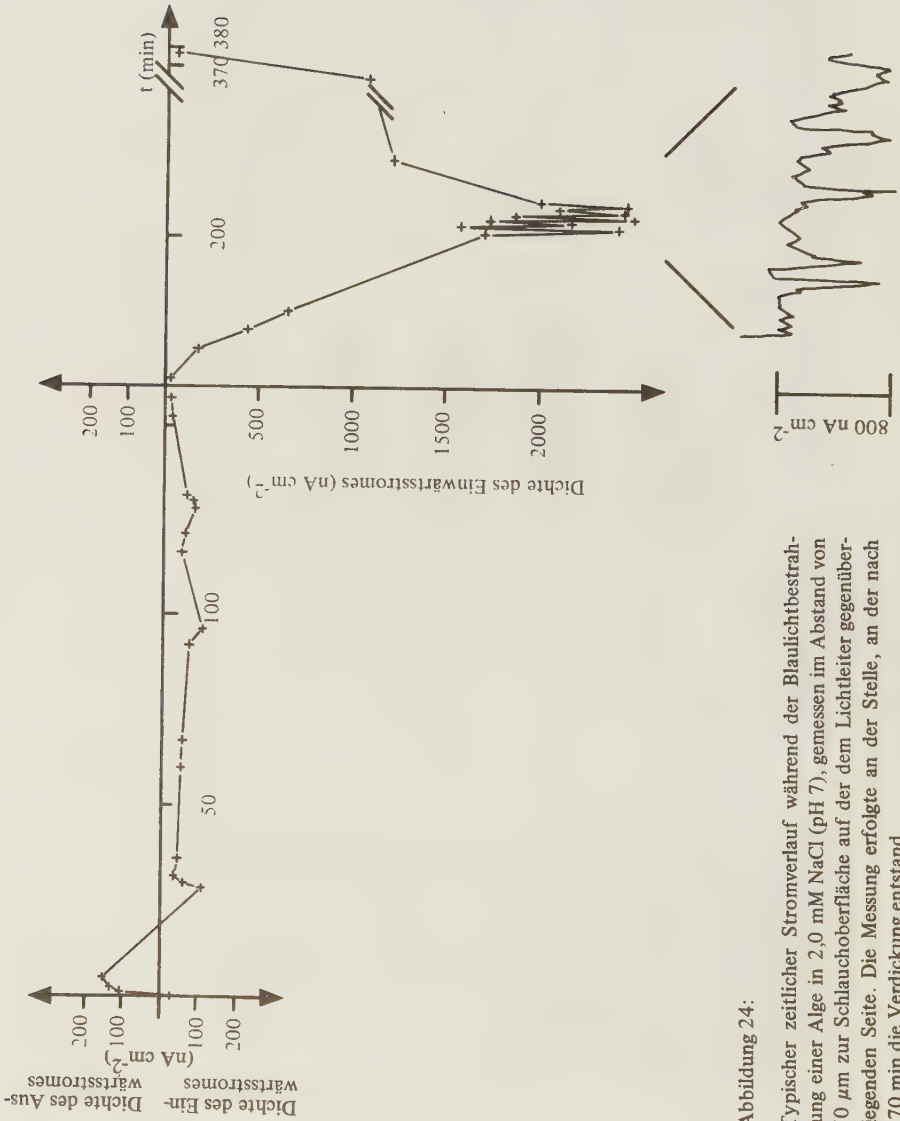


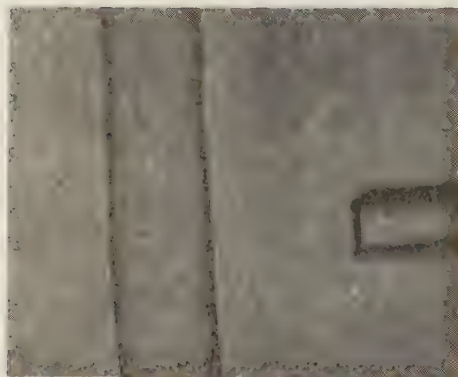
Abbildung 24:

Typischer zeitlicher Stromverlauf während der Blaulichtbestrahlung einer Alge in 2,0 mM NaCl (pH 7), gemessen im Abstand von 50 μm zur Schlauchoberfläche auf der dem Lichtleiter gegenüberliegenden Seite. Die Messung erfolgte an der Stelle, an der nach 170 min die Verdickung entstand.

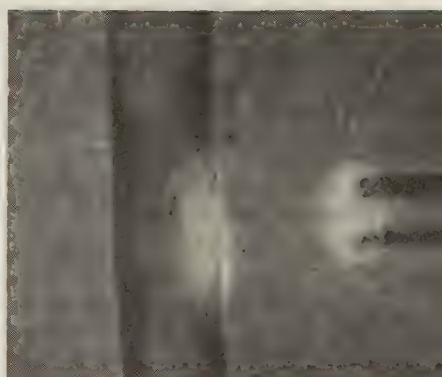
Die Eigenschaften der Zellmembran können vom Turgor abhängen. Es erschien daher sinnvoll, die Auswirkungen eines erniedrigten Turgors auf den Blaulicht-induzierten Strom und die Induzierbarkeit von Verzweigungen durch die Zugabe von Mannit zu untersuchen. Bei den Mannitkonzentrationen 300, 250 und 200 mM in APW pH 7 wurden je 2 Algen bestrahlt. Das Strommuster entsprach stets dem in Abbildung 22 b für pH 5 dargestellten zeitlichen Verlauf, wobei das Maximum des Auswärtsstromes mit $45 \pm 12 \text{ nA cm}^{-2}$ etwa $1/3$ des Wertes der Algen in APW betrug. Bei keinem Versuch wurde ein Einwärtsstrom gemessen, und es entstanden keine Verzweigungen. Die Algen in 300 mM Mannit zeigten nach etwa 3 h im bestrahlten Gebiet eine leichte Plasmolyse.

Bei allen lokal mit Blaulicht bestrahlten Algen nahm während der 4- bis 6stündigen Bestrahlung der Chloroplastengehalt im bestrahlten Gebiet zu und akropetal sowie basipetal dazu ab. Etwa 15 min nach dem Beginn der Bestrahlung sammelten sich die Chloroplasten zunächst auf der Schatten- und dann auf der Lichtseite an (Abb. 25 b). Nachdem der Schlauch im bestrahlten Gebiet ringförmig und gleichmäßig dicht mit Chloroplasten gefüllt war, entstand auf der Lichtseite ein heller Fleck von etwa $30 \mu\text{m}$ Breite und etwa $70 \mu\text{m}$ Länge (Abb. 25 c). Nach 2 bis 3 h waren auf der Licht- und Schattenseite dunkle Streifen mit Chloroplasten zu sehen (Abb. 25 d). Zwischen diesen und der Zellwand konnte in wenigen Fällen eine etwa $30 \mu\text{m}$ lange und $8 \mu\text{m}$ breite helle Stelle beobachtet werden. Aus dieser ging später die Verzweigungsanlage hervor.

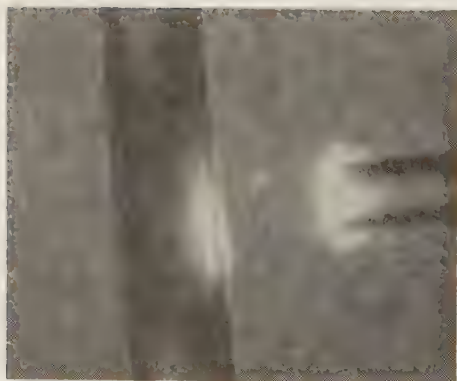
a)



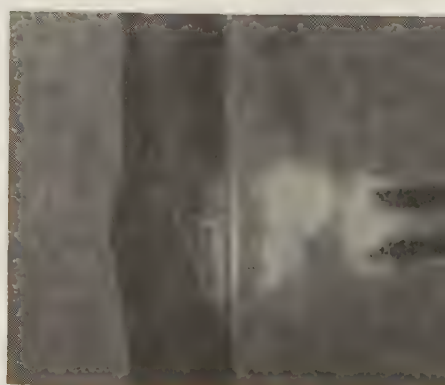
b)



c)



d)



e)



f)



Abbildung 25:

Ansammlung der Chloroplasten während der Bestrahlung mit Blaulicht. Die Alge befand sich in 0,1 mM CaCl_2 + 1,8 mM NaCl (pH 7).

Bestrahlungszeit:

a) 0 min; b) 15 min; c) 50 min; d) 160 min (Verdickung auf der Schattenseite); e) 220 min (Verzweigungsanlage auf der Schattenseite); f) 340 min (oberhalb der Äquatorialebene ausgewachsene Verzweigung)

2. 2. Strom und Verzweigungen bei Anwesenheit von CN^- -Ionen im Medium

KCN hatte bei der Bestrahlung mit Blaulicht keine deutlichen Auswirkungen auf den Strom oder die Induzierbarkeit von Verzweigungen. Bei allen 6 untersuchten Algen in APW pH 7 + 1,0 mM KCN wurde eine Verzweigung induziert. Diese wuchs oberhalb der Äquatorialebene aus und krümmte sich dann zum Lichtleiter hin. Der zeitliche Stromverlauf entsprach in 5 Fällen dem in Abbildung 22 d dargestellten, wobei der maximale Auswärtsstrom $192 \pm 9 \text{ nA cm}^{-2}$ betrug. Eine Alge hatte während der 4 1/2stündigen Bestrahlung überhaupt keinen Auswärtsstrom, sondern eine leichte Zunahme des schon im grünen Sicherheitslicht bestehenden Einwärtsstromes von $1 \mu\text{A cm}^{-2}$.

Nachdem die Verzweigungen mindestens $50 \mu\text{m}$ lang waren, betrug der Einwärtsstrom an der Oberfläche der Spitze $7,9 \pm 1,2 \mu\text{A cm}^{-2}$. Dies ist mehr als das 10fache der Stromstärke, die vor den endogen entstandenen Schlauchspitzen im 'Dunkeln' gemessen wurde (Abb. 18, APW + 1,0 mM KCN).

2. 3. Strom und Verzweigungen als Funktion des Abstandes des Bestrahlungsortes von der Spitze

Die Spitzen von 2 Algen, die sich in APW pH 7 befanden, wurden frontal mit Blaulicht bestrahlt. Dabei wurde ein leicht ansteigender Einwärtsstrom gemessen, der nach ungefähr 2 h an der Oberfläche der Zelle etwa $6 \mu\text{A cm}^{-2}$ betrug. Die Wachstumsgeschwindigkeit nahm ebenfalls leicht zu und betrug im Mittel $65 \mu\text{m h}^{-1}$. Beide Algen wuchsen zunächst auf die Lichtquelle zu, krümmten sich dann leicht vom Licht weg und wuchsen anschließend wieder in der ursprünglichen Richtung weiter. Der Durchmesser des neu gewachsenen Schlauchteiles war gegenüber dem alten um etwa 20 μm größer.

Die laterale Bestrahlung eines Algenschlauches 30, 65 und 100 μm von der Spitze entfernt, förderte das Spitzenwachstum ebenfalls. Dabei war die Wachstumsgeschwindigkeit im Mittel nur etwa halb so groß, der Einwärtsstrom etwa gleich hoch wie bei frontaler Bestrahlung. In dem bestrahlten Gebiet wurde ein Strommuster gemessen, das dem von Abbildung 22 a für pH 6 entsprach. Es entstand keine Verzweigung.

Bei Bestrahlung in einem Abstand von 160 μm zur Spitze wurde zunächst das Spitzenwachstum auch gefördert. Bei 2 von 3 Algen entstand eine Verzweigung im bestrahlten Gebiet. Das Wachstum der 'alten' Spitze wurde dann gänzlich eingestellt und gleichzeitig verringerte sich der Einwärtsstrom vor ihr auf nahezu Null. Vor den Verzweigungen wurde kontinuierlich hoher Einwärtsstrom gemessen.

Bei noch größerer Entfernung des Bestrahlungsortes von der Spitze (230, 260 und 330 μm) zeigte sich kein Einfluß mehr auf den Strom und das Wachstum der Spitze. Bei der in 330 μm Abstand bestrahlten Alge wurde eine Verzweigung induziert, wobei das Strommuster dem Verlauf von Abbildung 22 d für pH 7 entsprach.

DISKUSSION

Endogene Ionenströme und Wachstum der Alge *Vaucheria*

Bei den durchgeführten elektrophysiologischen Messungen an der Spitze von *Vaucheria sessilis* wurde immer ein einwärtsgerichteter Strom gefunden. Die Ergebnisse bei verschiedener ionaler Zusammensetzung des Mediums zeigen, daß dieser im wesentlichen aus Protonen (oder ausströmenden OH^- -Ionen) besteht. In den Medien mit verschiedener H^+ -Konzentration (Abb. 13) war der Strom bei pH 5, 6 und 7 etwa gleich groß, bei pH 8 jedoch viel geringer, so daß angenommen werden kann, daß der hohe Strom vor allem ein H^+ -Einstrom ist, wie er z. B. auch an wachsenden Wurzeln und Wurzelhaaren von *Hordeum vulgare* gefunden wurde (Weissenel et al., 1979).

Bei den in Abbildung 8 dargestellten Meßergebnissen fällt auf, daß der Strom mit zunehmender Cl^- -Konzentration abfällt mit Ausnahme von APW. Wegen der Abnahme des Stromes mit steigender Cl^- -Konzentration könnte man vermuten, daß am Einwärtsstrom der Spitze ein mit der Konzentration zunehmender Cl^- -Einstrom oder ein abnehmender Cl^- -Ausstrom beteiligt ist. Letzteres ist wohl auszuschließen, da sonst im Medium mit 0,1 mM CaCl_2 pH 7 der Gesamtstrom hauptsächlich von ausströmenden Cl^- -Ionen herrühren müßte, während die Messungen bei verschiedenen pH-Werten einen H^+ -Einstrom anzeigen. Gegen einen wesentlichen Anteil eines Cl^- -Einstromes spricht, daß sowohl der Strom als auch die Wachstumsgeschwindigkeit in den Medien mit CaCl_2 und CaSO_4 jeweils bei 0,1 und 1,0 mM praktisch gleich waren (Abb. 10). Auch werden in der Literatur (Raven, 1976) für andere Süßwasseralgen wesentlich geringere Netto- Cl^- -Einstrome angegeben, als hier vorhanden sein müßten. Der höchste Wert beträgt dort etwa $30 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, was einem Strom von etwa $0,3 \mu\text{A cm}^{-2}$ entspricht. Eine wesentliche Beteiligung von Cl^- -Ionen am Gesamteinwärtsstrom dürfte also nicht gegeben sein. Allerdings könnte der um etwa $1 \mu\text{A cm}^{-2}$ größere Einwärtsstrom z. B. in den Medien 0,1 mM CaSO_4 gegenüber 0,1 mM CaCl_2 doch auf einen verminderten Cl^- -Ausstrom hindeuten. Im Rahmen der Meßgenauigkeit kann darüber jedoch keine sichere Aussage gemacht werden.

Die Stromdichte in APW ist wesentlich größer, als es der Cl^- -Konzentration entsprechen würde. Da mit der Cl^- -Konzentration auch die Salzkonzentration abnimmt, könnte ein Zusammenhang zwischen Stromdichte und Salzkonzentration bestehen. Die Abnahme des Stromes nach der Zugabe von Mannit zum Medium (Tab. 1), deutet darauf hin, daß der Turgor einen Einfluß auf die Stromdichte hat.

Wachstum findet praktisch nur in Medien statt, die Ca^{2+} -Ionen enthalten, wobei sich Calcium an der Algenspitze ansammelt (Abb. 14). Es kann daher von einer Beteiligung von Calcium am Strom ausgegangen werden. Erwartet wurde somit eine Zunahme des Einwärtsstromes mit steigender Ca^{2+} -Konzentration des Mediums. Die Versuchsergebnisse der Abbildungen 11 und 12 a zeigen jedoch eine Stromabnahme. Dieser Befund ist nicht leicht zu erklären. Vielleicht vermindert Calcium den H^+ -Einstrom durch indirektes Einwirken, z. B. durch ein mit zunehmender Ca^{2+} -Konzentration positiver werdendes Membranpotential. Sowohl die Ergebnisse in Abbildung 12 a als auch die Übereinstimmung von Strom und Wachstum in den Medien $0,1 \text{ mM CaCl}_2 + 0,9 \text{ mM SrCl}_2$ pH 7 und $1,0 \text{ mM CaCl}_2$ pH 6 sind dafür Indizien. Damit wären auch die Ergebnisse von Abbildung 11 zu erklären. Mit steigender CaCl_2 -Konzentration nimmt dort bei pH 6 das Wachstum zu und bei pH 7 ab. Durch zunehmende Verringerung des H^+ -Einstromes könnten die Algen ähnlich reagieren, wie wenn sie in einem Medium mit höherem pH-Wert wären, also näher bei dem für das Wachstum günstigen pH 7 bzw. dem ungünstigen pH 8.

Kalium fördert in Ca^{2+} -haltigen Medien das Wachstum (Abb. 8), so daß von einer Beteiligung von K^+ -Ionen am Strom ausgegangen werden kann. Es wurde deshalb eine Zunahme des Einwärtsstromes mit steigender K^+ -Konzentration des Mediums erwartet. Da der Strom jedoch abnahm (Tab. 1), sind K^+ -Ionen anscheinend nicht direkt an ihm beteiligt. Auch Natrium dürfte am Gesamtstrom eher indirekt beteiligt sein, da die durch zusätzliches NaCl hervorgerufenen Stromänderungen (Abb. 8) sehr viel größer sind, als die bei anderen Süßwasseralgen üblichen Werte für Natrium-Flüsse (Raven, 1976).

Anzumerken ist, daß die Ergebnisse von den Algen in 10,0 mM CaSO_4 (Abb. 10) für die Betrachtungen über Strom und Wachstum außer acht gelassen werden können. Die Zellen waren im Vergleich mit denen in 10,0 mM CaCl_2 in einem deutlich anormalen Zustand, was sich unter anderem in einer chloroplastenleeren Spitze von mehr als 100 μm zeigte. Möglich wäre, daß durch einströmende SO_4^{2-} -Ionen das Wachstum gehemmt und ein OH^- -Ausstrom verursacht wird (Raven, 1976).

Für das Wachstum ist neben der notwendigen Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen (Abb. 8) der pH-Wert des Mediums von ausschlaggebender Bedeutung (Abb. 13). Bei den durchgeführten Versuchen ergab sich optimales Wachstum für eine Ca^{2+} -Konzentration von 0,1 bis 1,0 mM bei pH 7 (Abb. 11 b). Zusätzliche K^+ -Ionen im Medium erhöhten die Wachstumsgeschwindigkeit, während Na^+ -Ionen zu keiner Änderung führten (Abb. 8). Es war auch kein deutlicher Einfluß der Cl^- -Konzentration auf das Wachstum zu erkennen. Da *Vaucheria sessilis* in der Natur in Gewässern mit einem pH-Wert von etwa 7 vorkommt (Wehrle, 1927), da eventuell bei diesem pH-Wert die stärkste Ca^{2+} -Aufnahme stattfindet (wie z. B. bei Mais-Coleoptilen; Gross and Marmé, 1978) und da viele Enzyme für ihre Aktivität viel Kalium benötigen (Weisenseel, 1979 b), sind diese Befunde nicht überraschend.

Calcium wird bei *Vaucheria sessilis*, wie bei anderen Pflanzenzellen mit Spitzenwachstum, in der wachsenden Spitze angereichert (Jaffe et al., 1975; Reiss and Herth, 1979 a; Weisenseel et al., 1975). Aus den in dieser Arbeit durchgeführten Beobachtungen (Abb. 14) geht die Verteilung auf Zellwand und Cytoplasma nicht hervor. Bezüglich der Funktion des Calciums wird angenommen, daß die Ca^{2+} -Ionen durch das von ihnen aufgebaute elektrische Feld eine wesentliche Rolle für den Transport der zum Wachstum benötigten Vesikel in die Spitze spielen (Jaffe et al., 1974). Die Ca^{2+} -Anreicherung findet im Bereich der klaren Kappe statt, in der nach Ott and Brown (1974) viele Vesikel vorhanden sind. Durch Zugabe des Ca^{2+} -Ionophors A 23187 zum Medium erreichten Reiss and Herth (1979 b) eine Auflösung der Ca^{2+} -Ansammlung in der Spitze von Pollenschläuchen, die dabei ihre klare Kappe verloren und nicht mehr wuchsen. Bei *Vaucheria sessilis* ergaben

sich mit dem gleichen Ionophor entsprechende Ergebnisse (nicht dargestellte Vorversuche in 10,0 mM CaCl_2 pH 7; 2 nM A 23187). Die Zugabe des Ionophors führte zu einem hohen - vermutlich aus Calcium bestehenden - Einwärtsstrom von etwa $10 \mu\text{A cm}^{-2}$, der nach etwa 10 min wieder auf den Ausgangswert zurückging. Während dieser Zeit verschwand die klare Kappe und die Algen stellten das Wachstum ein.

Zwischen Wachstumsgeschwindigkeit und Stromdichte konnte keine enge Beziehung gefunden werden. Ein möglicher Grund hierfür könnte die starke Abhängigkeit des Stromes von den Ionen des Mediums sein. So bewirkte zusätzliches NaCl in dem Medium mit 0,1 mM CaCl_2 keine Wachstumsänderung, während der Strom etwa um das 2,5fache abnahm (Tab. 1). Lediglich innerhalb einzelner Meßreihen (Abb. 11 a und 12 a) ergab sich ungefähr ein umgekehrter linearer Zusammenhang zwischen beiden Größen: Die Wachstumsgeschwindigkeit nahm mit der Ca^{2+} -Konzentration zu, die Stromdichte mit der Ca^{2+} -Konzentration ab. Generell kann jedoch festgestellt werden, daß bei hohen Wachstumsgeschwindigkeiten in der Regel auch der Einwärtsstrom hoch ist und daß bei geringen Strömen ($< 1 \mu\text{A cm}^{-2}$) praktisch kein Wachstum mehr stattfindet.

Bei den Versuchen mit gehemmter Energiezufuhr aus der Photosynthese führte das Abschalten des Weißlichtes zu einer Erniedrigung des Stromes und der Wachstumsgeschwindigkeit (Abb. 17). Dies spricht für die Einwirkung aktiver Prozesse auf den Strom und für die Verwendung von Produkten aus der Photosynthese für das Wachstum. Nach der Zugabe von KCN zum Medium wachsen die Algen nicht mehr und auch der Strom geht gegen Null (Abb. 18). Es ist daher anzunehmen, daß auch die Atmung als Energielieferant eine Rolle spielt. Auf die Bedeutung der Atmung für das Wachstum weist die große Anzahl von Mitochondrien hin, die Ott and Brown (1974) bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen in den Algenspitzen verschiedener Vaucheriaarten fanden. Die Temperaturabhängigkeit der Stromdichte (Abb. 19) mit einem Q_{10} -Wert von etwa 2 ist kein ausgeprägtes Indiz für aktive Transportvorgänge (Lüttge, 1973). Der H^+ -Einstrom selbst erfolgt wohl passiv, da das Membranpotential nach Weiß (1982) negativ ist (- 80 bis - 140 mV) und der pH-Wert im Cytoplasma pflanzlicher Zellen mit etwa 7 bis 7,5 angenommen werden kann (Smith and Raven, 1976; Weisenseel, 1979 b).

Blaulicht-induzierte Ionenströme und Verzweigungen

Bei lokaler Bestrahlung eines Algenschlauches mit Blaulicht wurde zu Beginn nahezu immer (bei 65 von 66 Messungen) in der Mitte der bestrahlten Stelle ein Auswärtsstrom gemessen. Das Maximum dieses Stromes wird nach etwa 3 bis 17 min erreicht (Abb. 20, 21, 23). Seine Höhe ändert sich mit der Ca^{2+} - bzw. Na^{+} -Konzentration nicht wesentlich (Abb. 23), nimmt aber mit steigendem pH-Wert in APW zu (Abb. 21). Dies spricht für einen H^{+} -Ausstrom, wie er auch von Blatt et al. (1981) gemessen wurde.

Das Maximum des Auswärtsstromes wird durch Cyanid-Zugaben zu APW kaum verändert. Eine direkte Beziehung zwischen dem durch Blaulicht induzierten Auswärtsstrom und der Atmungskette scheint nicht zu bestehen, wobei allerdings ein CN^{-} -resistenter Nebenweg bestehen könnte (Mohr und Schopfer, 1978). Nach Blatt et al. (1981) sind die Prozesse der Photosynthese an dem Auswärtsstrom nicht beteiligt.

In Abbildung 22 sind die typischen zeitlichen Stromverläufe dargestellt. Auf einen geringen Auswärtsstrom folgt stets kein oder nur ein äußerst geringer Einwärtsstrom und es entstehen keine Verzweigungen (Abb. 22 a und b). Relativ hoher Auswärtsstrom hat nachfolgenden hohen Einwärtsstrom und eventuell die Bildung einer Verzweigung zur Folge (Abb. 22 c und d). Andauernd hoher Einwärtsstrom wird nur vor wachsenden Verzweigungen gemessen (Abb. 22 d). Verzweigungen entstehen also nahezu immer nach relativ hohem Auswärtsstrom. Wie bei Auxin-induziertem H^{+} -Ausstrom könnte eine Ansäuerung zur Auflockerung der Zellwandschichten führen (Cleland and Rayle, 1977; Dörffling, 1982). Da der Ort des höchsten Einwärtsstromes im bestrahlten Gebiet zunächst wechselt, könnte dies eine Umverteilung von Membranbausteinen anzeigen (vgl. Jaffe et al., 1974; Weisenseel, 1979 a; Nuccitelli, 1983). Erst kurz vor dem Auswachsen tritt der höchste Einwärtsstrom andauernd am Entstehungsort der Verzweigung auf. Dies spricht dafür, daß erst dann die Umverteilung der Membranbausteine abgeschlossen und ein neues Wachstumszentrum entstanden ist. Ähnliche Strommuster vor der Ausbildung der Zellpolarität beschreibt Nuccitelli (1978) bei *Pelvetia*.

Die Zugabe von Mannit zu APW bewirkt eine Verringerung des Auswärtsstromes, wobei der zeitliche Stromverlauf dem entspricht, der in Abbildung 22 b für pH 5 dargestellt ist. Der niedrige Auswärtsstrom ist auch hier ein Indiz für den weiteren Stromverlauf. Auf den Auswärtsstrom folgt kein hoher Einwärtsstrom und es gibt keine Verzweigung.

In NaCl-Medium ohne zugesetzte Ca^{2+} -Ionen tritt vor entstehenden Verzweigungsanlagen zuerst ein hoher Auswärtsstrom auf (Abb. 23, 24). Kurz nach dem Sichtbarwerden der Verzweigungsanlage steigt der Einwärtsstrom stark an und dauert dann mit großen Schwankungen solange an, bis die Verzweigungsanlage nicht mehr wächst. Anschließend fließt nur noch sehr geringer Strom (Abb. 24). Die Induktion einer Verzweigung ist zwar ohne die Zugabe von Ca^{2+} -Ionen möglich, nicht aber das weitere Wachstum. Die Induzierbarkeit von wachsenden Verzweigungen ist von der Ca^{2+} -Konzentration abhängig (Abb. 23). Nur in 0,1 mM CaCl_2 haben alle Algen mindestens eine, teilweise zwei wachsende Verzweigungen. Die Wirkung der Ca^{2+} -Ionen könnte mit Calmodulin verknüpft sein (Cheung, 1980; Cormier et al., 1981; Marmé, 1981; Marmé, 1982), da nach Zugabe von Trifluoperazin, einem Calmodulin-Hemmstoff, keine Verzweigungen induziert wurden (nicht im Detail dargestellte Vorversuche).

Eine einzige der untersuchten Algen hatte keinen anfänglichen Auswärtsstrom, sondern zeigte bei Blaulichtbestrahlung ein Ansteigen des schon vor der Bestrahlung relativ hohen Einwärtsstromes. Wahrscheinlich wurde eine Stelle bestrahlt, an der eine spontane Verzweigung auch ohne Blaulichtbestrahlung entstanden wäre. Hoher Einwärtsstrom wurde z. B. auch bei *Achyla bisexualis* vor spontanen Verzweigungen gemessen (Kropf et al., 1983).

Durch die Blaulichtbestrahlung der bestehenden Spitze wird deren Wachstum angeregt. Ebenso fördert die lokale seitliche Bestrahlung des Schlauches das Wachstum der Spitze, wenn die Bestrahlung bis etwa 160 μm hinter der Spitze erfolgt. Ab 160 μm wachsen teilweise Verzweigungen aus. Dann stellt die Spitze das Wachstum ein. Wenn die Bestrahlung mehr als 300 μm hinter der Spitze erfolgt, wird

in der Regel eine Verzweigung induziert. Verzweigungen scheinen erst zu entstehen, wenn der Bestrahlungsort hinter der subapikalen und in der vakuolisierten Zone liegt (zur Morphologie siehe Ott and Brown, 1974). Auffallend ist, daß die zum Wachstum angeregten Spitzen teilweise gekrümmt wachsen. Der Strom vor den Spitzen wird durch die Blaulichtbestrahlung anfangs erhöht und schwankt während der weiteren Bestrahlung kaum. Da kein Auswärtsstrom auftritt, spricht dies für ein Verlagern des bestehenden und nicht für eine Induktion eines neuen Wachstumszentrums beim Krümmungswachstum (vgl. auch Kataoka, 1975 b). Nach dem Auswachsen von Verzweigungen innerhalb von 160 μm hinter der Spitze geht der Strom vor der Spitze gegen Null. Vor den wachsenden Verzweigungen wird weiterhin hoher Einwärtsstrom gemessen. Das Ausschalten des Blaulichtes hat eine Abnahme des Einwärtsstromes zur Folge.

Die Bestrahlung mit Blaulicht führt in dem bestrahlten Gebiet bei *Vaucheria sessilis* zu Chloroplastenansammlungen (Abb. 25) wie dies auch von Fischer-Arnold (1963), Schönbohm (1980), Blatt et al. (1980) und Blatt and Briggs (1980) beobachtet wurde. Blatt et al. (1981) bringen die Chloroplastenansammlung mit einer kortikalen Faservernetzung und dem Auswärtsstrom in Verbindung. Die Chloroplastenansammlung ist kurz nach dem Erreichen des maximalen Auswärtsstromes sichtbar (Abb. 21, 23). Die Chloroplasten kommen aus dem akro- und basipetalen Gebiet. Es findet also eine bidirektionale Chloroplastenbewegung statt (Fischer-Arnold, 1963).

LITERATUR

- Åberg, H.: Light and branch formation in the alga *Vaucheria dichotoma* (Xanthophyceae); *Physiol. Plant.* 44, 224 - 230 (1978)
- Behrens, H. M., Weisenseel, M. H., Sievers, A.: Rapid changes in the pattern of electric current around the root tip of *Lepidium sativum* L. following gravistimulation; *Plant Physiol.* 70, 1079 - 1083 (1982)
- Blatt, M. R., Briggs, W. R.: Blue-light-induced cortical fiber reticulation concomitant with chloroplast aggregation in the alga *Vaucheria sessilis*; *Planta* 147, 355 - 362 (1980)
- Blatt, M. R., Weisenseel, M. H., Haupt, W.: A light-dependent current associated with chloroplast aggregation in the alga *Vaucheria sessilis*; *Planta* 152, 513 - 526 (1981)
- Blatt, M. R., Wessells, N. K., Briggs, W. R.: Actin and cortical fiber reticulation in the siphonaceous alga *Vaucheria sessilis*; *Planta* 147, 363 - 375 (1980)
- Cheung, W. Y.: Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation; *Science* 207, 19 - 27 (1980)
- Cleland, R. E., Rayle, D. L.: Reevaluation of the effect of calcium ions on Auxin-induced elongation; *Plant Physiol.* 60, 709 - 712 (1977)
- Cormier, M. J., Charbonneau, H., Jarrett, H. W.: Plant and fungal calmodulin: Ca^{2+} -dependent regulation of plant NAD kinase; *Cell Calcium* 2, 313 - 331 (1981)
- Dörffling, K.: Das Hormonsystem der Pflanzen; S. 44, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1982)

- Dorn, A.: Endogene und induzierte Ionenströme bei der Grünalge *Nitella flexilis*; Doktorarbeit, Erlangen (1981)
- Dorn, A., Weisenseel, M. H.: Advances in vibrating probe techniques; *Protoplasma* 113, 89 - 96 (1982)
- Fischer-Arnold, G.: Untersuchungen über die Chloroplastenbewegung bei *Vaucheria sessilis*; *Protoplasma* 56, 495 - 520 (1963)
- Gross, J., Marmé, D.: ATP-dependent Ca^{2+} uptake into plant membrane vesicles; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75, 1232 - 1236 (1978)
- Haupt, W., Schönfeld, I.: Über das Wirkungsspektrum der 'negativen Phototaxis' der *Vaucheria*-Chloroplasten; *Ber. dtsh. bot. Ges.* 75, 14 - 23 (1962)
- Jaffe, L. A., Weisenseel, M. H., Jaffe, L. F.: Calcium accumulations within the growing tips of pollen tubes; *J. Cell Biol.* 67, 488 - 492 (1975)
- Jaffe, L. F., Nuccitelli, R.: An ultrasensitive vibrating probe for measuring steady extracellular currents; *J. Cell Biol.* 63, 614 - 628 (1974)
- Jaffe, L. F., Nuccitelli, R.: Electrical controls of development; *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 6, 445 - 476 (1977)
- Jaffe, L. F., Robinson, K. R., Nuccitelli, R.: Local cation entry and self-electrophoresis as an intracellular localization mechanism; *Ann. New York Acad. Sci.* 238, 372 - 389 (1974)
- Kataoka, H.: Phototropism in *Vaucheria geminata* I. The action spectrum; *Plant & Cell Physiol.* 16, 427 - 437 (1975 a)
- Kataoka, H.: Phototropism in *Vaucheria geminata* II. The mechanism of bending and branching; *Plant & Cell Physiol.* 16, 439 - 448 (1975 b)

- Kicherer, R. M.: Endogene und lichtinduzierte elektrische Ströme bei *Vaucheria sessilis*; Diplomarbeit, Erlangen (1980)
- Kropf, D. L., Lupa, M. D. A., Caldwell, J. H., Harold, F. M.: Cell polarity: Endogenous ion currents precede and predict branching in the water mold *Achlya*; *Science* 220, 1385 - 1387 (1983)
- Lüttge, U.: Stofftransport der Pflanzen; S. 38 ff., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973)
- Marmé, D.: Calcium, Calmodulin und ihre zelluläre Funktion; *BiuZ* 11, 71 - 77 (1981)
- Marmé, D.: The role of Ca^{2+} and calmodulin in plants; What's new in *Plant Physiol.* 13, 37 - 40 (1982)
- Mohr, H., Schopfer, P.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie; 3. Aufl., S. 182 ff., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1978)
- Nuccitelli, R.: Oöplasmic segregation and secretion in the *Pelvetia* egg is accompanied by a membrane-generated electrical current; *Dev. Biol.* 62, 13 - 33 (1978)
- Nuccitelli, R.: Transcellular ion currents: Signals and effectors of cell polarity; *Modern Cell Biol.* 2, 451 - 481 (1983)
- Nuccitelli, R., Jaffe, L. F.: The pulse current pattern generated by developing fucoid eggs; *J. Cell Biol.* 64, 636 - 643 (1975)
- Ott, D. W., Brown, R. M.: Developmental cytology of the genus *Vaucheria* I. Organisation of the vegetative filament; *British phycol. J.* 9, 111 - 126 (1974)
- Raven, J. A.: Transport in algal cells; in: *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol. 2 A, *Transport in Plants*, ed. by U. Lüttge and M. G. Pitman, pp. 129 - 188, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976)

- Reiss, H.-D., Herth, W.: Calcium gradients in tip growing plant cells visualized by chlorotetracycline fluorescence; *Planta* 146, 615 - 621 (1979 a)
- Reiss, H.-D., Herth, W.: Calcium ionophore A 23187 affects localized wall secretion in the tip region of pollen tubes of *Lilium longiflorum*; *Planta* 145, 225 - 232 (1979 b)
- Rieth, A.: Beobachtungen über Polarität und Regeneration an *Vaucherien*; *Kulturpflanze* 17, 141 - 161 (1969)
- Sachs, L.: *Angewandte Statistik*; 4. Aufl., S. 298 ff., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1974)
- Schönbohm, E.: Phytochrome and non-phytochrome dependent blue light effects on intracellular movements in fresh-water algae; in: *The Blue Light Syndrome*, ed. by H. Senger, pp. 69 - 96, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1980)
- Smith, F. A., Raven, J. A.: H^+ transport and regulation of cell pH; in: *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol. 2 A, *Transport in Plants*, ed. by U. Lüttge and M. G. Pitman, pp. 317 - 346, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976)
- Weber, W.: Zur Polarität von *Vaucheria*; *Z. Bot.* 46, 161 - 198 (1958)
- Wehrle, E.: Studien über Wasserstoffionenkonzentrationsverhältnisse und Besiedelung an Algenstandorten in der Umgebung von Freiburg im Breisgau; *Z. Bot.* 19, 209 - 287 (1927)
- Weissenfels, M. H.: Induction of polarity; in: *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol. 7, *Physiology of Movements*, ed. by W. Haupt and M. E. Feinleib, pp. 485 - 505, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1979 a)

- Weisenseel, M. H.: Zur Funktion biologischer Membranen (Pflanzliche Zellen); in: Biologie, Schriftenreihe des VDB, Bd. 3, Bau und Funktion biologischer Membranen, hrsg. von J. Tendel, S. 23 - 37, Erlangen (1979 b)
- Weisenseel, M. H.: Kontrolle von Differenzierung und Wachstum durch endogene elektrische Ströme; in: Biophysik, 2. Aufl., hrsg. von W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl, H. Ziegler, S. 475 - 480, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1982)
- Weisenseel, M. H., Dom, A., Jaffe, L. F.: Natural H^+ -currents traverse growing roots and root hairs of barley (*Hordeum vulgare* L.); Plant Physiol. 64, 512 - 518 (1979)
- Weisenseel, M. H., Jaffe, L. F.: The major growth current through lily pollen tubes enters as K^+ and leaves as H^+ ; Planta 133, 1 - 7 (1976)
- Weisenseel, M. H., Kicherer, R. M.: Ionic currents as control mechanism in cytomorphogenesis; in: Cell Biology Monographs, Vol. 8, Cytomorphogenesis in Plants, ed. by O. Kiermayer, pp. 379 - 399, Springer-Verlag, Wien, New York (1981)
- Weisenseel, M. H., Nuccitelli, R., Jaffe, L. F.: Large electrical currents traverse growing pollen tubes; J. Cell Biol. 66, 556 - 567 (1975)
- Weiß, J.: Das elektrische Membranpotential der Alge *Vaucheria sessilis*; Zulassungsarbeit, Karlsruhe (1982)

Herrn Professor Dr. M. H. Weisenseel danke ich für die Überlassung des sehr interessanten Themas und für die intensive Betreuung der Arbeit. Herrn Professor Dr. W. Haupt danke ich für sein stetes Interesse an der Arbeit.

Die Durchführung der Messungen wäre ohne die technische Unterstützung durch Herrn Dr. A. Dorn, bei dem ich mich dafür bedanke, kaum möglich gewesen. Mein Dank gilt auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Name	Rosalinde Margarete Ottilie Kicherer, geb. Seitz
Geburtstag und -ort	26. Juni 1949 in Bubenreuth
Eltern	Bäckermeister Georg Seitz und Kauffrau Anna Seitz, geb. Vestner
Familienstand	verheiratet seit 18. Juli 1970
Kinder	eine 3jährige Tochter
Schulbildung	1955 - 1959: Volksschule 1959 - 1962: Gymnasium 1962 - 1965: Handelsschule 1971 - 1973: Berufsoberschule
Prüfungen	1965: Mittlere Reife 1968: Sekretärinnen-Diplom 1970: Staatliche Prüfung für Lehrer der Kurzschrift und des Maschinenschreibens 1973: fachgebundenes Abitur (Fachrichtung Wirtschaft) 1974: Allgemeine Hochschulreife durch Französisch-Zusatzprüfung 1980: Diplom in Biologie
Studienzeit	WS 1973/74 - SS 1974: Betriebswirtschaftslehre an der Universität Erlangen-Nürnberg WS 1974/75 - SS 1980: Biologie an der Universität Erlangen-Nürnberg
Berufstätigkeit	1965 - 1970: Sekretärin beim Institut für Kirchenrecht und beim Lehrstuhl für Zivilrecht der Universität Erlangen-Nürnberg 1970 - 1971: Fachlehrerin für Kurzschrift und Maschinenschreiben an der Maria-Ward-Schule (Institut der Englischen Fräulein) in Nürnberg 1980 - 1982: Wissenschaftliche Mitarbeiterin (DFG) bei Prof. Dr. M. H. Weisenseel, Universität Erlangen-Nürnberg und Universität Karlsruhe seit 1983: Wissenschaftliche Mitarbeiterin (DFG) bei Prof. Dr. W. Haupt, Universität Erlangen-Nürnberg

Druck: Copy Center 2000
Obere Karlstraße 30
8520 Erlangen